

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representation of
The original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION (PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing: 06 July 2000 (06.07.00)	
International application No.: PCT/JP99/07198	Applicant's or agent's file reference: 2583WO0P
International filing date: 22 December 1999 (22.12.99)	Priority date: 24 December 1998 (24.12.98)
Applicant: TOYODA, Yukio et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on: -
31 January 2000 (31.01.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was ,
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer:</p> <p>J. Zahra</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
--	--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/07198

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/85, C12N5/10, C12Q1/00, G01N33/50, A61K35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/00-90, C12N5/00-28, C12Q1/00-70, G01N33/50-98,
A61K31/00-48/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
MEDLINE (STN), Genbank/EMBL/DBJ/GeneSeq, WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PY PX	Naxin Tu et al., "Molecular cloning and functional characterization of the promoter region of the human uncoupling protein-2 gene", Biochemical and Biophysical Research Communications (1999), Vol.265, No.2, p.326-334	1-7 8-14
Y	WO, 98/49265, A1 (Tularik Inc.), 05 November, 1998 (05.11.98) & US, 5807740, A & AU, 9872552, A	1-14
Y	US, 5849514, A (Tularik Inc.), 15 December, 1998 (15.12.98) (Family: none)	1-14
Y	WO, 98/31396, A (Duke University), 23 July, 1998 (23.07.98) & AU, 9728097, A	1-14

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
28 March, 2000 (28.03.00)Date of mailing of the international search report
18 April, 2000 (18.04.00)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

担当者	G・M	Pat・M	部長
安立	元		

PCT/JP99/07198

21

PATENT COOPERATION TREATY

PCT
NOTIFICATION OF TRANSMITTAL
OF COPIES OF TRANSLATION
OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 72.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TAKAHASHI, Shuichi
 Osaka Plant of Takeda Chemical
 Industries, Ltd.
 17-85, Jusohonmachi 2-chome
 Yodogawa-ku, Osaka-shi
 Osaka 532-0024
 JAPON



Date of mailing (day/month/year) 18 July 2001 (18.07.01)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 2583WO0P	
International application No. PCT/JP99/07198	International filing date (day/month/year) 22 December 1999 (22.12.99)
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al	

1. Transmittal of the translation to the applicant.

The International Bureau transmits herewith a copy of the English translation made by the International Bureau of the international preliminary examination report established by the International Preliminary Examining Authority.

2. Transmittal of the copy of the translation to the elected Offices.

The International Bureau notifies the applicant that copies of that translation have been transmitted to the following elected Offices requiring such translation:

EP,AU,CA,CN,CZ,NO,NZ,PL,RO,RU,SK,US

The following elected Offices, having waived the requirement for such a transmittal at this time, will receive copies of that translation from the International Bureau only upon their request:

AP,EA,AE,AL,AM,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,CR,CU,DM,EE,GD,GE,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KG,KR,KZ,LC,LK,LR,LT,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MX,SG,SI,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UZ,VN,YU,ZA,OA

3. Reminder regarding translation into (one of) the official language(s) of the elected Office(s).

The applicant is reminded that, where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report.

It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned (Rule 74.1). See Volume II of the PCT Applicant's Guide for further details.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Eliott Peretti
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

127

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 2583 WO0P	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP99/07198	International filing date (<i>day/month/year</i>) 22 December 1999 (22.12.99)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 24 December 1998 (24.12.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/85, 5/10, C12Q 1/00, G01N 33/50, A61K 35/00		
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 31 January 2000 (31.01.00)	Date of completion of this report 12 January 2001 (12.01.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07198

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

☒ the international application as originally filed

☐ the description:

pages _____

pages _____

pages _____

as originally filed

filed with the demand

filed with the letter of _____

☐ the claims:

pages _____

pages _____

pages _____

pages _____

as originally filed

as amended (together with any statement under Article 19

filed with the demand

filed with the letter of _____

☐ the drawings:

pages _____

pages _____

pages _____

as originally filed

filed with the demand

filed with the letter of _____

☐ the sequence listing part of the description:

pages _____

pages _____

pages _____

as originally filed

filed with the demand

filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).

☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).

☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☒ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

☐ the description, pages _____

☐ the claims, Nos. _____

☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 99/07198

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	2, 3, 6, 8-14	YES
	Claims	1, 4, 5, 7	NO
Inventive step (IS)	Claims	12-14	YES
	Claims	1-11	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-14	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Claims 1-7

Documents cited

1. US, 5807740, A (05.01.98)

2. US, 5849514, A (16.12.98)

Documents 1 and 2 disclose DNA containing a promoter region which includes a UCP-2 regulator sequence and has a nucleotide sequence which coincides with bases 1762 to 2280 of the nucleotide sequence indicated in SEQ ID NO: 1 in the description of the present application (corresponding to "part thereof" in the claims and page 4), and also discloses a recombinant vector containing said DNA and a transformant incorporating said recombinant vector.

Therefore, the inventions described in Claims 1, 4, 5 and 7 of the present application are essentially the same as the inventions disclosed in Documents 1 and 2.

The selection of the specified sequences as the regulator sequence also does not offer any marked advantageous effect that could not be predicted from the inventions disclosed in Documents 1 and 2, and it would not be especially difficult to select said specific sequences.

Moreover, since the DNA disclosed in Documents 1 and 2 is a promoter region which includes a regulator

sequence, a person skilled in the art could easily conceive of using a vector including said region as an expression vector, and of constructing a recombinant vector which included a structural gene (the expression of which is) controlled by said region.

Claims 8-11

It is possible to identify substances which promote or inhibit the activity of a promoter by screening (determining promoter activity), by simply determining mRNA, because in most cases said promoter activity does not exert an effect on the nucleotide sequence in the 3' downstream region, and this was conventional practice at the time of filing this application.

Therefore, a person skilled in the art could easily conceive of applying the conventional practice above for the purpose of detecting substances which promote or inhibit a DNA promoter disclosed in Document 1 or 2, and use screening to obtain substances which promote or inhibit the activity of a promoter which includes a UCP-2 regulator.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

Claims 12-14

When only a desired quality is specified it is commonly difficult to grasp what actual compounds have this quality. Therefore, when the description provides no clue such as a chemical structure for identifying active ingredients, it can be judged not to provide a clear and sufficiently detailed description to allow a skilled man to carry out the invention, because it requires a greater capacity for trial and error than can be expected of a person skilled in the art to prepare and screen an infinite number of compounds in order to confirm whether they have the quality in question in the process of obtaining an active ingredient necessary to carrying out the invention.

This applies to the description of the present application, which does not give any specific example of compounds which can be obtained by the screening method of Claims 8 and 9, or any clue such as a chemical structure in order to identify such compounds; and these were not capable of being inferred by a person skilled in the art at the time of filing.

The invention described in Claims 12-14 of compounds obtained by the screening method described in Claims 8 and 9 is therefore not understandable to a person skilled in the art, and the confirmation thereof requires greater capacity for trial and error than can be expected of a person skilled in the art, to prepare and screen an infinite number of compounds.

Therefore, the invention described in Claims 12-14 is not described clearly or in sufficient detail in the description to enable a skilled man to carry it out.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INFORMATION CONCERNING ELECTED
OFFICES NOTIFIED OF THEIR ELECTION

(PCT Rule 61.3)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TAKAHASHI, Shuichi
Osaka Plant of Takeda Chemical
Industries, Ltd.
17-85, Jusohonmachi 2-chome
Yodogawa-ku, Osaka-shi
Osaka 532-0024
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 06 July 2000 (06.07.00)		
Applicant's or agent's file reference 2583WO0P		IMPORTANT INFORMATION
International application No. PCT/JP99/07198	International filing date (day/month/year) 22 December 1999 (22.12.99)	
Priority date (day/month/year) 24 December 1998 (24.12.98)		
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al		

1. The applicant is hereby informed that the International Bureau has, according to Article 31(7), notified each of the following Offices of its election:

AP : GH,GM,KE,LS,MW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW
EP : AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE
National : AU,BG,BR,CA,CN,CZ,IL,JP,KR,MN,NO,NZ,PL,RO,RU,SK,US

2. The following Offices have waived the requirement for the notification of their election; the notification will be sent to them by the International Bureau only upon their request:

EA : AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM
OA : BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG
National : AE,AL,AM,AZ,BA,BB,BY,CR,CU,DM,EE,GD,GE,HR,HU,ID,IN,IS,KG,KZ,LC,
LK,LR,LT,LV,MA,MD,MG,MK,MX,SG,SI,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UZ,VN,YU,ZA

3. The applicant is reminded that he must enter the "national phase" **before the expiration of 30 months from the priority date** before each of the Offices listed above. This must be done by paying the national fee(s) and furnishing, if prescribed, a translation of the international application (Article 39(1)(a)), as well as, where applicable, by furnishing a translation of any annexes of the international preliminary examination report (Article 36(3)(b) and Rule 74.1).

Some offices have fixed time limits expiring later than the above-mentioned time limit. For detailed information about the applicable time limits and the acts to be performed upon entry into the national phase before a particular Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The entry into the European regional phase is postponed **until 31 months from the priority date** for all States designated for the purposes of obtaining a European patent.

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No. (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer: J. Zahra</p> <p>Telephone No. (41-22) 338.83.38</p>
---	---

PCT

EP



国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)
[PCT 18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 2583WOOP	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/07198	国際出願日 (日.月.年) 22. 12. 99	優先日 (日.月.年) 24. 12. 98
出願人 (氏名又は名称) 武田薬品工業株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 (PCT 18条) の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☒ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第47条 (PCT 規則38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ C12N 15/85, C12N 5/10, C12Q 1/00, G01N 33/50, A61K 35/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ C12N 15/00~90, C12N 5/00~28, C12Q 1/00~70, G01N 33/50~98, A61K 31/00~48/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

MEDLINE (STN), Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
$\frac{P X}{P Y}$	Naxin Tu et al., "Molecular cloning and functional characterization of the promoter region of the human uncoupling protein-2 gene", Biochemical and Biophysical Research Communications (1999), Vol. 265, No. 2, p. 326-334	$\frac{1-7}{8-14}$
Y	WO, 98/49265, A1 (Tularik Inc.) 5.11月.1998 (05.11.98) & US, 5807740, A & AU, 9872552, A	1-14
Y	US, 5849514, A (Tularik Inc.) 15.12月.1998 (15.12.98) ファミリーなし	1-14

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28.03.00

国際調査報告の発送日

18.04.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齋藤 真由美

4B

8931

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO, 98/31396, A (Duke Univerisity) 23.7月.1998 (23.07.98) & AU, 9728097, A	1 - 14

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 26 JAN 2001

WIPO PCT

出願人又は代理人 の書類記号 2583WOOP	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P99/07198	国際出願日 (日.月.年) 22.12.99	優先日 (日.月.年) 24.12.98
国際特許分類(IPC) Int.Cl ⁷ C12N15/85, C12N5/10, C12Q1/00, G01N33/50, A61K35/00		
出願人(氏名又は名称) 武田薬品工業株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。

- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で _____ ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☒ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 31.01.00	国際予備審査報告を作成した日 12.01.01	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 小暮 道明	4 B 9358
電話番号 03-3581-1101 内線 3448		

1. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☒ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲

2, 3, 6, 8-14

有

請求の範囲

1, 4, 5, 7

無

進歩性(1S)

請求の範囲

12-14

有

請求の範囲

1-11

無

産業上の利用可能性(1A)

請求の範囲

1-14

有

請求の範囲

無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

<請求の範囲第1-7項について>

【引用文献】 1. US, 5807740, A (05.01.1998)

2. US, 5849514, A (16.12.1998)

引用文献1, 2には、UCP-2のレギュレーター配列を含むプロモーター領域を含有するDNAであり、しかも本願明細書の配列番号1で示される塩基配列の第1762番目～第2280番目までの塩基配列と一致する塩基配列を有するDNA(請求の範囲第4項に記載の「その一部」に相当すると認める)、該DNAを含有する組み換えベクター、及び学組み換えベクターの組み込まれた形質転換体が記載されている。

したがって、請求の範囲第1, 4, 5, 7に記載の本願発明は、引用文献1, 2記載の発明と実質的に同一と認める。

また、レギュレーター配列として特定のものを選択したとしても、該特定のものを選択したことにより、引用文献1, 2記載の発明からは想到死得ないほどの顕著な効果を奏することを客観的に確認されない以上、該特定のものを選択したことにも、格別の困難性は認められない。

さらに、引用文献1, 2記載のDNAはレギュレーター配列を含むプロモーター領域であることにより、該領域を含むベクターを発現ベクターとし、該領域(発現制御)下に構造遺伝子を含む組み換えベクターを作成することも、当業者が容易に想到し得たことと認める。

<請求の範囲第8-11項について>

一般に、プロモーター活性は多くの場合3'下流域の塩基配列に影響されないことからmRNAを勘弁に測定することにより、該プロモーター活性を促進又は阻害する等の物質をスクリーニング(プロモーターの活性測定)により可能であることは、本願出願当時慣用技術であったと認める。

したならば、引用文献1, 2記載のDNAのプロモーターの促進又は阻害物質を検出する目的で、上記慣用技術を適用し、UCP-2のレギュレーター配列を含むプロモーター活性を促進又は阻害する物質をスクリーニングにより得ようとすることは、当業者が容易に想到し得たことと認める。

Ⅶ. 国際出願に対する意見

請求の範囲、明細書及び図面の明瞭性又は請求の範囲の明細書による十分な裏付についての意見を次に示す。

<請求の範囲第12-14項について>

一般に、所望の性質を特定することのみで、その性質を有する化合物自体を把握することは困難である。したがって、化学構造などの有効成分を得るための手がかりが記載されていない明細書は、発明の実施に必要な有効成分の入手課程において、無数の化合物を製造、スクリーニングして、当該性質を有するか否かを確認するという当業者に期待し得る程度を越える試行錯誤を求めるものであり、当業者が発明を実施することができる程度に明確かつ十分に記載されていないものと判断される。

これを本願明細書についてみると、請求の範囲第8、9項に記載のスクリーニング方法により得られる化合物の具体例は、何ら記載されていない、さらに該当化合物を得るための化学構造などの手がかりも何ら記載されておらず、かつ、それが出願時に当業者に推認できたものとも認められない。

したがって、請求の範囲第12-14項に係る発明に関し、請求の範囲第8、9項に記載のスクリーニング方法により得られる化合物を当業者は理解できず、発明の実施にあたり、無数の化合物を製造・スクリーニングして確認するという、当業者に期待し得る程度を越える試行錯誤を求めるものである。

よって、発明の詳細な説明には、請求の範囲第12-14項に係る発明を、当業者が実施できる程度に明確かつ十分に記載されていない。

審査官	Q・M	Pat・M	部長

特許協力条約

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

出願人代理人

高 橋 秀 一

殿

あて名

〒 532-0024

大阪府大阪市淀川区十三本町2-17-85
武田薬品工業株式会社大阪工場内

PCT見解書

00.12.-3 (法第13条)
[PCT規則66]



発送日
(日.月.年)

03.10.00

出願人又は代理人
の書類記号

2583WOOP

応答期間

上記発送日から 2 月以内

国際出願番号

PCT/J P 99/07198

国際出願日

(日.月.年)

22.12.99

優先日

(日.月.年)

24.12.98

国際特許分類 (IPC) Int.Cl' C12N15/85, C12N5/10, C12Q1/00, G01N33/50,
A61K35/00

出願人 (氏名又は名称)

武田薬品工業株式会社

- これは、この国際予備審査機関が作成した 1 回目の見解書である。
- この見解書は、次の内容を含む。
 - ☒ 見解の基礎
 - ☐ 優先権
 - ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解の不作成
 - ☐ 発明の単一性の欠如
 - ☒ 法第13条 (PCT規則66.2(a)(ii)) に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
 - ☐ ある種の引用文献
 - ☐ 国際出願の不備
 - ☐ 国際出願に対する意見
- 出願人は、この見解書に応答することが求められる。
 いつ? 上記応答期間を参照すること。この応答期間に間に合わないときは、出願人は、法第13条 (PCT規則66.2(d)) に規定するとおり、その期間の経過前に国際予備審査機関に期間延長を請求することができる。ただし、期間延長が認められるのは合理的な理由があり、かつスケジュールに余裕がある場合に限られることに注意されたい。
 どのように? 法第13条 (PCT規則66.3) の規定に従い、答弁書及び必要な場合には、補正書を提出する。補正書の様式及び言語については、法施行規則第62条 (PCT規則66.8及び66.9) を参照すること。
 なお 補正書を提出する追加の機会については、法施行規則第61条の2 (PCT規則66.4) を参照すること。補正書及び/又は答弁書の審査官による考慮については、PCT規則66.4の2を参照すること。審査官との非公式の連絡については、PCT規則66.6を参照すること。
 応答がないときは、国際予備審査報告は、この見解書に基づき作成される。
- 国際予備審査報告作成の最終期限は、PCT規則69.2の規定により 24.04.01 である。

名称及びあて先

日本国特許庁 (IPEA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齊藤真由美

4 B

8931

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

様式PCT/IPEA/408 (表紙) (1998年7月)

(添付用紙の注意書きを参照)

I. 見解の基礎

1. この見解書は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この見解書において「出願時」とする。)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき見解書を作成した。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☒ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この見解書は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第13条（PCT規則66.2(a)(ii)に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	2, 3, 6, 8-14	有
	請求の範囲	1, 4, 5, 7	無
進歩性 (IS)	請求の範囲	12-14	有
	請求の範囲	1-11	無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1-14	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明

<請求の範囲第1-7項について>

【引用文献】 1. US, 5807740, A (05.01.1998)

2. US, 5849514, A (16.12.1998)

引用文献1, 2には、UCP-2のレギュレーター配列を含むプロモーター領域を含有するDNAであり、しかも本願明細書の配列番号1で示される塩基配列の第1762番目～第2280番目までの塩基配列と一致する塩基配列を有するDNA(請求の範囲第4項に記載の「その一部」に相当すると認める)、該DNAを含有する組換えベクター、及び該組換えベクターの組み込まれた形質転換体が記載されている。

したがって、請求の範囲第1, 4, 5, 7に記載の本願発明は、引用文献1, 2記載の発明と実質的に同一と認める。

また、レギュレーター配列として特定のものを選択したとしても、該特定のものを選択したことにより、引用文献1, 2記載の発明からは想到し得ない程の顕著な効果を奏することを客観的に確認されない以上、該特定のものを選択したことにも、格別の困難性は認められない。

さらに、引用文献1, 2記載のDNAはレギュレーター配列を含むプロモーター領域であることより、該領域を含むベクターを発現ベクターとし、該領域(発現制御)下に構造遺伝子を含む組換えベクターを作成することも、当業者が容易に想到し得たことと認める。

<請求の範囲第8-11項について>

一般に、プロモーター活性は、多くの場合3'下流域の塩基配列に影響されないことからmRNAを簡便に測定することにより、該プロモーター活性を促進又は阻害する等の物質をスクリーニング(プロモーターの活性測定)により可能であることは、本願出願当時慣用技術であったと認める。

したならば、引用文献1, 2記載のDNAのプロモーターの促進又は阻害物質を検出する目的で、上記慣用技術を適用し、UCP-2のレギュレーター配列を含むプロモーター活性を促進又は阻害する物質をスクリーニングにより得ようとすることは、当業者が容易に想到し得たことと認める。

Ⅶ. 国際出願に対する意見

請求の範囲、明細書及び図面の明瞭性又は請求の範囲の明細書による十分な裏付についての意見を次に示す。

〈 特許請求の範囲第 1 2 - 1 4 項について 〉

一般に、所望の性質を特定することのみで、その性質を有する化合物自体を把握することは困難である。したがって、化学構造等の有効成分を得るための手がかりが記載されていない明細書は、発明の実施に必要な有効成分の入手過程において、無数の化合物を製造、スクリーニングして、当該性質を有するか否かを確認するという当業者に期待し得る程度を超える試行錯誤を求めるものであり、当業者が発明を実施することができる程度に明確かつ十分に記載されていないものと判断される。

これを本願明細書についてみると、請求の範囲第 8, 9 項に記載のスクリーニング方法により得られる化合物の具体例は、何ら記載されていない。さらに、該当化合物を得るための化学構造等の手がかりも何ら記載されておらず、かつ、それが出願時に当業者に推認できたものとも認められない。

したがって、請求の範囲第 1 2 - 1 4 項に係る発明に関し、請求の範囲第 8, 9 項に記載のスクリーニング方法により得られる化合物を当業者は理解できず、発明の実施にあたり、無数の化合物を製造・スクリーニングして確認するという、当業者に期待し得る程度を超える試行錯誤を求めるものである。

よって、発明の詳細な説明には、請求の範囲第 1 2 - 1 4 項に係る発明を、当業者が実施できる程度に明確かつ十分に記載されていない。

PATENT COOPERATION TREATY

WO 00/39315
PCT/JP99/07198

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

TAKAHASHI, Shuichi
Osaka Plant of Takeda Chemical
Industries, Ltd.
17-85, Jusohonmachi 2-chome
Yodogawa-ku, Osaka-shi
Osaka 532-0024
JAPON



Date of mailing (day/month/year) 06 July 2000 (06.07.00)		
Applicant's or agent's file reference 2583WOOP		
IMPORTANT NOTICE		
International application No. PCT/JP99/07198	International filing date (day/month/year) 22 December 1999 (22.12.99)	Priority date (day/month/year) 24 December 1998 (24.12.98)
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:
 AU,CN,JP,KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:
 AE,AL,AM,AP,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,CA,CR,CU,CZ,DM,EA,EE,EP,GD,GE,HR,HU,ID,IL,IN,IS,KG,
 KZ,LC,LK,LR,LT,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MX,NO,NZ,OA,PL,RO,RU,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,
 UA,UZ,VN,YU,ZA
 The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on
 06 July 2000 (06.07.00) under No. WO 00/39315

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a **demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer <p style="text-align: center;">J. Zahra</p>
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

特許協力条約

発信人 日本国特許庁（受理官庁）

特許庁	G・M	Pat・M	部長

出願人代理人

高橋 秀一

あて名

〒532-0024

大阪府大阪市淀川区十三本町2-17-85
武田薬品工業株式会社大阪工場内

殿

PCT/JP99/07198

RO105

233回(2001/11月~1月)
にて審査済み国際出願番号及び
国際出願日の通知書(法施行規則第22条、第23条)
〔PCT規則20.5(c)〕

出願人又は代理人 の書類記号 2583WOOP		発送日(日.月.年) 11.01.00	
国際出願番号 PCT/JP99/07198		重要な通知 優先日(日.月.年) 24.12.98	
出願人(氏名又は名称) 武田薬品工業株式会社		国際出願日(日.月.年) 22.12.99	

1. この国際出願は、上記の国際出願番号及び国際出願日が付与されたことを通知する。

記録原本は、11日01月00年に国際事務局に送付した。

注 意

- 国際出願番号は、特許協力条約を表示する「PCT」の文字、斜線、受理官庁を表示する2文字コード（日本の場合JP）、西暦年の最後から2桁の数字、斜線、及び5桁の数字からなっています。
- 国際出願日は、「特許協力条約に基づく国際出願に関する法律」第4条第1項の要件を満たした国際出願に付与されます。
- あて名等を変更したときは、速やかにあて名の変更届等を提出して下さい。
- 電子計算機による漢字処理のため、漢字の一部を当用漢字、又は、仮名に置き換えて表現してある場合もありますので御了承下さい。
- この通知に記載された出願人のあて名、氏名（名称）に誤りがあるときは申出により訂正します。
- 国際事務局は、受理官庁から記録原本を受領した場合には、出願人にその旨を速やかに通知（様式PCT/IB/301）する。記録原本を優先日から14箇月が満了しても受領していないときは、国際事務局は出願人にその旨を通知する。〔PCT規則22.1(c)〕

名称及びあて名

日本国特許庁（RO/JP）

郵便番号 100-8915 TEL 03-3592-1308

日本国東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

様式PCT/RO/105（1998年7月）

権限のある職員

特許庁長官

担当者	G.M	Pat.M	部長
PATENT COOPERATION TREATY			

PCT/JP99/07198

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT OF RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

To:

TAKAHASHI, Shuichi
Osaka Plant of Takeda Chemical
Industries, Ltd.
17-85, Jusohonmachi 2-chome
Yodogawa-ku, Osaka-shi
Osaka 532-0024
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 25 January 2000 (25.01.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 2583WOOP	International application No. PCT/JP99/07198

The applicant is hereby notified that the International Bureau has received the record copy of the international application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. (for all designated States except US)
TOYODA, Yukio et al (for US)

International filing date : 22 December 1999 (22.12.99)
Priority date(s) claimed : 24 December 1998 (24.12.98)
Date of receipt of the record copy
by the International Bureau : 14 January 2000 (14.01.00)
List of designated Offices :

AP : GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW

EA : AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM

EP : AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE

OA : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG

National : AE, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN,
IS, JP, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TJ, TM,
TR, TT, TZ, UA, US, UZ, VN, YU, ZA

ATTENTION

The applicant should carefully check the data appearing in this Notification. In case of any discrepancy between these data and the indications in the international application, the applicant should immediately inform the International Bureau.

In addition, the applicant's attention is drawn to the information contained in the Annex, relating to:

- ☒ time limits for entry into the national phase
☒ confirmation of precautionary designations
☒ requirements regarding priority documents

A copy of this Notification is being sent to the receiving Office and to the International Searching Authority.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer: Y. KUWAHARA Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	---

INFORMATION ON TIME LIMITS FOR ENTERING THE NATIONAL PHASE

The applicant is reminded that the "national phase" must be entered before each of the designated Offices indicated in the Notification of Receipt of Record Copy (Form PCT/IB/301) by paying national fees and furnishing translations, as prescribed by the applicable national laws.

The time limit for performing these procedural acts is **20 MONTHS** from the priority date or, for those designated States which the applicant elects in a demand for international preliminary examination or in a later election, **30 MONTHS** from the priority date, provided that the election is made before the expiration of 19 months from the priority date. Some designated (or elected) Offices have fixed time limits which expire even later than 20 or 30 months from the priority date. In other Offices an extension of time or grace period, in some cases upon payment of an additional fee, is available.

In addition to these procedural acts, the applicant may also have to comply with other special requirements applicable in certain Offices. **It is the applicant's responsibility** to ensure that the necessary steps to enter the national phase are taken in a timely fashion. Most designated Offices do not issue reminders to applicants in connection with the entry into the national phase.

For detailed information about the procedural acts to be performed to enter the national phase before each designated Office, the applicable time limits and possible extensions of time or grace periods, and any other requirements, see the relevant Chapters of Volume II of the PCT Applicant's Guide. Information about the requirements for filing a demand for international preliminary examination is set out in Chapter IX of Volume I of the PCT Applicant's Guide.

GR and ES became bound by PCT Chapter II on 7 September 1996 and 6 September 1997, respectively, and may, therefore, be elected in a demand or a later election filed on or after 7 September 1996 and 6 September 1997, respectively, regardless of the filing date of the international application. (See second paragraph above.)

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

CONFIRMATION OF PRECAUTIONARY DESIGNATIONS

This notification lists only specific designations made under Rule 4.9(a) in the request. It is important to check that these designations are correct. Errors in designations can be corrected where precautionary designations have been made under Rule 4.9(b). The applicant is hereby reminded that any precautionary designations may be confirmed according to Rule 4.9(c) before the expiration of 15 months from the priority date. If it is not confirmed, it will automatically be regarded as withdrawn by the applicant. There will be no reminder and no invitation. Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying the designated State concerned (with an indication of the kind of protection or treatment desired) and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.

REQUIREMENTS REGARDING PRIORITY DOCUMENTS

For applicants who have not yet complied with the requirements regarding priority documents, the following is recalled.

Where the priority of an earlier national, regional or international application is claimed, the applicant must submit a copy of the said earlier application, certified by the authority with which it was filed ("the priority document") to the receiving Office (which will transmit it to the International Bureau) or directly to the International Bureau, before the expiration of 16 months from the priority date, provided that any such priority document may still be submitted to the International Bureau before that date of international publication of the international application, in which case that document will be considered to have been received by the International Bureau on the last day of the 16-month time limit (Rule 17.1(a)).

Where the priority document is issued by the receiving Office, the applicant may, instead of submitting the priority document, request the receiving Office to prepare and transmit the priority document to the International Bureau. Such request must be made before the expiration of the 16-month time limit and may be subjected by the receiving Office to the payment of a fee (Rule 17.1(b)).

If the priority document concerned is not submitted to the International Bureau or if the request to the receiving Office to prepare and transmit the priority document has not been made (and the corresponding fee, if any, paid) within the applicable time limit indicated under the preceding paragraphs, any designated State may disregard the priority claim, provided that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Where several priorities are claimed, the priority date to be considered for the purposes of computing the 16-month time limit is the filing date of the earliest application whose priority is claimed.

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

TAKAHASHI, Shuichi
Osaka Plant of Takeda Chemical
Industries, Ltd.
17-85, Jusohonmachi 2-chome
Yodogawa-ku, Osaka-shi
Osaka 532-0024
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 28 February 2000 (28.02.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 2583WO0P	
International application No. PCT/JP99/07198	International filing date (day/month/year) 22 December 1999 (22.12.99)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 24 December 1998 (24.12.98)
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al	

- The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
- An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
24 Dec 1998 (24.12.98)	10/366719	JP	18 Febr 2000 (18.02.00)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Y. KUWAHARA

Telephone No. (41-22) 338.83.38

特許協力条約に基づく国 願

願 書

出願人は、この国際出願が特許協力条約に
従って処理されることを請求する。

国際出願番号	受理官庁記入欄
国際出願日	22.12.99
(受付印)	受領印

出願人又は代理人の書類記号
(希望する場合、最大12字)

2583WO0P

第 I 欄 発明の名称

UCP-2プロモーターおよびその用途

第 II 欄 出願人

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

武田薬品工業株式会社
TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.
〒541-0045 日本国大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi,
OSAKA 541-0045 JAPAN

☐ この欄に記載した者は、
発明者でもある。

電話番号:

ファクシミリ番号:

加入電話番号:

国籍 (国名): 日本国 Japan

住所 (国名): 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である: ☐ すべての指定国 ☒ 米国を除くすべての指定国 ☐ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

第 III 欄 その他の出願人又は発明者

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、
次に該当する:

☐ 出願人のみである。

☒ 出願人及び発明者である。

☐ 発明者のみである。
(ここにレ印を付したときは、
以下に記入しないこと)

豊田幸生 TOYODA Yukio
〒661-0033 日本国兵庫県尼崎市南武庫之荘8丁目29番10号
エスト武庫之荘504号室
Esuto-Mukonosono 504, 29-10, Minamimukonosono 8-chome,
Amagasaki-shi, HYOGO 661-0033 JAPAN

国籍 (国名): 日本国 Japan

住所 (国名): 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である: ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

☒ その他の出願人又は発明者が続葉に記載されている。

第 IV 欄 代理人又は共通の代表者、通知のあて名

次に記載された者は、国際機関において出願人のために行動する:

☒ 代理人

☐ 共通の代表者

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

電話番号:

03-3278-2235

ファクシミリ番号:

03-3278-2222

加入電話番号:

11404 弁理士 高橋秀一 TAKAHASHI Shuichi
〒532-0024 日本国大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号
武田薬品工業株式会社大阪工場内
c/o Osaka Plant of TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.
17-85, Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi,
OSAKA 532-0024 JAPAN

☐ 通知のためのあて名: 代理人又は共通の代表者が選任されておらず、上記枠内に特に通知が送付されるあて名を記載している場合は、レ印を付す

第Ⅲ欄の続き その他の出願人又は発明者

この続葉を使用しないときは、この用紙を願書に含めないこと。

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

小林真 KOBAYASHI Makoto
〒651-2276 日本国兵庫県神戸市西区春日台七丁目 5 - 5
5-5, Kasugadai 7-chome, Nishi-ku, Kobe-shi, HYOGO 651-2276
JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☒ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
(ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍 (国名): 日本国 Japan

住所 (国名): 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

井垣茂 IGAKI Shigeru
〒563-0029 日本国大阪府池田市五月丘 1 丁目 8 番 3 号
ジオ池田五月丘 2 番館 2 0 7 号室
Jio-Ikeda-satsukigaoka 2-bankan 207, 8-3, Satsukigaoka 1-chome,
Ikeda-shi, OSAKA 563-0029 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☒ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
(ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍 (国名): 日本国 Japan

住所 (国名): 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☐ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
(ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍 (国名):

住所 (国名):

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☐ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☐ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
(ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍 (国名):

住所 (国名):

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☐ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

☐ その他の出願人又は発明者が他の続葉に記載されている。

第Ⅴ欄 国の指定

規則 4. 9(a)の規定に基づき次の指定を行う（該当する□にレ印を付すこと；少なくとも1つの□にレ印を付すこと）。

広域特許

- ☒ AP **ARIPO特許**：GH ガーナ Ghana, GM ガンビア Gambia, KE ケニア Kenya, LS レソト Lesotho, MW マラウイ Malawi, SD スーダン Sudan, SZ スワジランド Swaziland, UG ウガンダ Uganda, ZW ジンバブエ Zimbabwe, 及びハラレプロトコルと特許協力条約の締約国である他の国
- ☒ EA **ユーラシア特許**：AM アルメニア Armenia, AZ アゼルバイジャン Azerbaijan, BY ベラルーシ Belarus, KG キルギス Kyrgyzstan, KZ カザフスタン Kazakhstan, MD モルドヴァ Republic of Moldova, RU ロシア Russian Federation, TJ タジキスタン Tajikistan, TM トルクメニスタン Turkmenistan, 及びユーラシア特許条約と特許協力条約の締約国である他の国
- ☒ EP **ヨーロッパ特許**：AT オーストリア Austria, BE ベルギー Belgium, CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein, CY キプロス Cyprus, DE ドイツ Germany, DK デンマーク Denmark, ES スペイン Spain, FI フィンランド Finland, FR フランス France, GB 英国 United Kingdom, GR ギリシャ Greece, IE アイルランド Ireland, IT イタリア Italy, LU ルクセンブルグ Luxembourg, MC モナコ Monaco, NL オランダ Netherlands, PT ポルトガル Portugal, SE スウェーデン Sweden, 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国である他の国
- ☒ OA **OAPI特許**：BF ブルキナ・ファソ Burkina Faso, BJ ベナン Benin, CF 中央アフリカ Central African Republic, CG コンゴ Congo, CI コートジボアール Côte d'Ivoire, CM カメルーン Cameroon, GA ガボン Gabon, GN ギニア Guinea, GW ギニア・ビサウ Guinea-Bissau, ML マリ Mali, MR モーリタニア Mauritania, NE ニジェール Niger, SN セネガル Senegal, TD チャード Chad, TG トーゴ Togo, 及びアフリカ知的所有権機構のメンバー国と特許協力条約の締約国である他の国（他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線の上に記載する）

国内特許（他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線の上に記載する）

- | | |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> AE アラブ首長国連邦 United Arab Emirates | <input checked="" type="checkbox"/> MD モルドヴァ Republic of Moldova |
| <input checked="" type="checkbox"/> AL アルバニア Albania | <input checked="" type="checkbox"/> MG マダガスカル Madagascar |
| <input checked="" type="checkbox"/> AM アルメニア Armenia | <input checked="" type="checkbox"/> MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国 The former Yugoslav Republic of Macedonia |
| <input checked="" type="checkbox"/> AT オーストリア Austria | <input checked="" type="checkbox"/> MN モンゴル Mongolia |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU オーストラリア Australia | <input checked="" type="checkbox"/> MW マラウイ Malawi |
| <input checked="" type="checkbox"/> AZ アゼルバイジャン Azerbaijan | <input checked="" type="checkbox"/> MX メキシコ Mexico |
| <input checked="" type="checkbox"/> BA ボスニア・ヘルツェゴヴィナ Bosnia and Herzegovina | <input checked="" type="checkbox"/> NO ノールウェー Norway |
| <input checked="" type="checkbox"/> BB バルバドス Barbados | <input checked="" type="checkbox"/> NZ ニュー・ジーランド New Zealand |
| <input checked="" type="checkbox"/> BG ブルガリア Bulgaria | <input checked="" type="checkbox"/> PL ポーランド Poland |
| <input checked="" type="checkbox"/> BR ブラジル Brazil | <input checked="" type="checkbox"/> PT ポルトガル Portugal |
| <input checked="" type="checkbox"/> BY ベラルーシ Belarus | <input checked="" type="checkbox"/> RO ルーマニア Romania |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA カナダ Canada | <input checked="" type="checkbox"/> RU ロシア Russian Federation |
| <input checked="" type="checkbox"/> CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein | <input checked="" type="checkbox"/> SD スーダン Sudan |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN 中国 China | <input checked="" type="checkbox"/> SE スウェーデン Sweden |
| <input checked="" type="checkbox"/> CU キューバ Cuba | <input checked="" type="checkbox"/> SG シンガポール Singapore |
| <input checked="" type="checkbox"/> CZ チェッコ Czech Republic | <input checked="" type="checkbox"/> SI スロヴェニア Slovenia |
| <input checked="" type="checkbox"/> DE ドイツ Germany | <input checked="" type="checkbox"/> SK スロヴァキア Slovakia |
| <input checked="" type="checkbox"/> DK デンマーク Denmark | <input checked="" type="checkbox"/> SL シエラ・レオネ Sierra Leone |
| <input checked="" type="checkbox"/> EE エストニア Estonia | <input checked="" type="checkbox"/> TJ タジキスタン Tajikistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> ES スペイン Spain | <input checked="" type="checkbox"/> TM トルクメニスタン Turkmenistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> FI フィンランド Finland | <input checked="" type="checkbox"/> TR トルコ Turkey |
| <input checked="" type="checkbox"/> GB 英国 United Kingdom | <input checked="" type="checkbox"/> TT トリニダード・トバゴ Trinidad and Tobago |
| <input checked="" type="checkbox"/> GD グレナダ Grenada | <input checked="" type="checkbox"/> UA ウクライナ Ukraine |
| <input checked="" type="checkbox"/> GE グルジア Georgia | <input checked="" type="checkbox"/> UG ウガンダ Uganda |
| <input checked="" type="checkbox"/> GH ガーナ Ghana | <input checked="" type="checkbox"/> US 米国 United States of America |
| <input checked="" type="checkbox"/> GM ガンビア Gambia | <input checked="" type="checkbox"/> UZ ウズベキスタン Uzbekistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> HR クロアチア Croatia | <input checked="" type="checkbox"/> VN ヴィエトナム Viet Nam |
| <input checked="" type="checkbox"/> HU ハンガリー Hungary | <input checked="" type="checkbox"/> YU ユーゴスラヴィア Yugoslavia |
| <input checked="" type="checkbox"/> ID インドネシア Indonesia | <input checked="" type="checkbox"/> ZA 南アフリカ共和国 South Africa |
| <input checked="" type="checkbox"/> IL イスラエル Israel | <input checked="" type="checkbox"/> ZW ジンバブエ Zimbabwe |
| <input checked="" type="checkbox"/> IN インド India | |
| <input checked="" type="checkbox"/> IS アイスランド Iceland | |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP 日本 Japan | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KE ケニア Kenya | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KG キルギス Kyrgyzstan | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KP 北朝鮮 Democratic People's Republic of Korea | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR 韓国 Republic of Korea | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KZ カザフスタン Kazakhstan | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC セント・ルシア Saint Lucia | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LK スリ・ランカ Sri Lanka | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LR リベリア Liberia | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LS レソト Lesotho | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LT リトアニア Lithuania | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LU ルクセンブルグ Luxembourg | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LV ラトヴィア Latvia | |

以下の□は、この様式の施行後に特許協力条約の締約国となった国を指定（国内特許のために）するためのものである

- | |
|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> CR コスタリカ Costa Rica |
| <input checked="" type="checkbox"/> DM ドミニカ Dominica |
| <input checked="" type="checkbox"/> TZ タンザニア Tanzania |
| <input checked="" type="checkbox"/> MA モロッコ Morocco |
| <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> |

確認の指定の宣言：出願人は、上記の指定に加えて、規則4. 9(b)の規定に基づき、特許協力条約の下で認められる他の全ての国の指定を行う。ただし、この宣言から除く旨の表示を追記欄にした国は、指定から除かれる。出願人は、これらの追加される指定が確認を条件としていること、並びに優先日から15月が経過する前にその確認がなされない指定は、この期間の経過時に、出願人によって取り下げられたものとみなされることを宣言する。（指定の確認は、指定を特定する通知の提出と指定手数料及び確認手数料の納付からなる。この確認は、優先日から15月以内に受理官庁へ提出しなければならない。）

追記欄 この追記欄を使用しないときは、この欄を願書に含めないこと。

1. 全ての情報を該当する欄の中に記載できないとき。

この場合は、「第何欄.....の続き」(欄番号を表示する)と表示し、記載できない欄の指示と同じ方法で情報を記載する。；特に、

(i) 出願人又は発明者として3人以上いる場合で、「続葉」を使用できないとき。

この場合は、「第Ⅲ欄の続き」と表示し、第Ⅲ欄で求められている同じ情報を、それぞれの者について記載する。

(ii) 第Ⅱ欄又は第Ⅲ欄の枠の中で、「追記欄に記載した指定国」にレ印を付しいるとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」、「第Ⅲ欄の続き」又は「第Ⅱ欄及び第Ⅲ欄の続き」と記載し、該当する出願人の氏名(名称)を表示し、それぞれの氏名(名称)の次にその者が出願人となる指定国(広域特許の場合は、ARIPO特許・ユーラシア特許・ヨーロッパ特許・OAPI特許)を記載する。

(iii) 第Ⅱ欄又は第Ⅲ欄の枠の中で、発明者又は発明者及び出願人である者が、すべての指定国のための又は米国のための発明者ではないとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」、「第Ⅲ欄の続き」又は「第Ⅱ欄及び第Ⅲ欄の続き」と記載し、該当する発明者の氏名を表示し、その者が発明者である指定国(広域特許の場合は、ARIPO特許・ユーラシア特許・ヨーロッパ特許・OAPI特許)を記載する。

(iv) 第Ⅳ欄に示す代理人以外に代理人がいるとき。

この場合は、「第Ⅳ欄の続き」と表示し、第Ⅳ欄で求められている同じ情報を、それぞれの代理人について記載する。

(v) 第Ⅴ欄において指定国又はOAPI特許が、「追加特許」又は「追加証」を伴うとき、又は、米国が「継続」又は「一部継続」を伴うとき。

この場合は、「第Ⅴ欄の続き」及び該当するそれぞれの指定国又はOAPI特許を表示し、それぞれの指定国又はOAPI特許の後に、原特許又は原出願の番号及び特許付与日又は原出願日を記載する。

(vi) 第Ⅵ欄において優先権を主張する先の出願が4件以上あるとき。

この場合は、「第Ⅵ欄の続き」と表示し、第Ⅵ欄で求められている同じ情報を、それぞれの先の出願について記載する。

(vii) 第Ⅵ欄において先の出願がARIPOの特許出願であるとき。

この場合は、「第Ⅵ欄の続き」と表示し、その先の出願に対応する項目の番号を特定して、更に、その先の出願を行った工業所有権の保護のためのパリ条約同盟国の少なくとも1ヶ国を表示する。

2. 出願人が、第Ⅴ欄における確認の指定の宣言に関し、その宣言からいずれかの国を除くことを希望するとき。

この場合は、「確認の指定の宣言から、以下の指定国を除く」と記載し、除かれる国名又は2文字の国コードを表示する。

3. 出願人が、指定官庁について不利にならない開示又は新規性の喪失についての例外に関する国内法の適用を請求するとき。

この場合は、「不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する陳述」と表示し、以下にその内容を記述する。

「第Ⅳ欄の続き」

11045 弁理士 内山 務 UCHIYAMA Tsutomu

〒532-0024 日本国大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号
武田薬品工業株式会社大阪工場内

c/o Osaka Plant of TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.
17-85, Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi,
OSAKA 532-0024 JAPAN

第VI欄 優先権主張				
他の優先権の主張(先の出願)が追記欄に記載されて				
先の出願日 (日. 月. 年)	先の出願番号	先 の 出 願		
		国内出願 : 国 名	広域出願 : *広域官庁名	国際出願 : 受理官庁名
(1) 24. 12. 98	平成10年特許願 第366719号	日本国 Japan		
(2)				
(3)				

☒ 上記 () の番号の先の出願(ただし、本国際出願が提出される受理官庁に対して提出されたものに限り)のうち、次の () の番号のものについては、出願書類の認証謄本を作成し国際事務局へ送付することを、受理官庁 (日本特許庁の長官) に対して請求している。 (1)

*先の出願が、ARIPOの特許出願である場合には、その先の出願を行った工業所有権の保護のためのパリ条約同盟国の少なくとも1ヶ国を追記欄に表示しなければならない(規則4.10(b)(ii))。追記欄を参照。

第VII欄 国際調査機関	
国際調査機関 (ISA) の選択	先の調査結果の利用請求; 当該調査の照会 (先の調査が、国際調査機関によって既に実施又は請求されている場合)
ISA/JP	出願日 (日. 月. 年) 出願番号 国名 (又は広域官庁)

第VIII欄 照合欄 ; 出願の言語	
この国際出願の用紙の枚数は次のとおりである。	この国際出願には、以下にチェックした書類が添付されている。
願書 5 枚 明細書(配列表を除く). 22 枚 請求の範囲 2 枚 要約書. 1 枚 図面. 10 枚 明細書の配列表. 4 枚 合計 44 枚	1. <input checked="" type="checkbox"/> 手数料計算用紙 <input type="checkbox"/> 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面 <input type="checkbox"/> 国際事務局の口座への振込みを証明する書面 2. <input checked="" type="checkbox"/> 別個の記名押印された委任状 3. <input checked="" type="checkbox"/> 包括委任状の写し <input type="checkbox"/> 記名押印(署名)の説明書 5. <input type="checkbox"/> 優先権書類 (上記第VI欄の() の番号を記載する): 6. <input type="checkbox"/> 国際出願の翻訳文(翻訳に使用した言語名を記載する): 7. <input type="checkbox"/> 寄託した微生物又は他の生物材料に関する書面 8. <input type="checkbox"/> ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列表(フレキシブルディスク) 9. <input type="checkbox"/> その他 (書類名を詳細に記載する):

要約書とともに提示する 図面:	本国際出願の使用言語名: 日本語
-----------------	------------------

IX欄 提出者の記名押印	
各人の氏名 (名称) を記載し、その次に押印する。	
高橋 秀一	内山 務

受理官庁記入欄	
1. 国際出願として提出された書類の実際の受理の日	2. 図面 <input type="checkbox"/> 受理された <input type="checkbox"/> 不足図面がある
3. 国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であってその後期間内に提出されたものの実際の受理の日 (訂正日)	
4. 特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日	
5. 出願人により特定された国際調査機関 ISA/JP	
6. <input type="checkbox"/> 調査手数料未払いにつき、国際調査機関に調査用写しを送付していない	

国際事務局記入欄	
記録原本の受理の日	

P C I

受理官庁記入欄

手数料計算用紙
願 番 附 属 書

国際出願番号

出願人又は代理人の書類記号

2583WO0P

受理官庁の日付印

出願人

武田薬品工業株式会社

所定の手数料の計算

1. 及び2. 特許協力条約に基づく国際出願等に関する法律（国内法）
第18条第1項第1号の規定による手数料（注1）
（送付手数料 [T] 及び調査手数料 [S] の合計）

95,000 円 T+S

国際手数料（注2）

基本手数料

国際出願に含まれる用紙の枚数 44 枚

最初の30枚まで

54,800 円 b1

14 × 1,300 =

18,200 円 b2

30枚を越える用紙の枚数

用紙1枚の手数料

b1及びb2に記入した金額を加算し、合計額をBに記入

73,000 円 B

指定手数料

国際出願に含まれる指定数（注3） 64

10 × 12,600 =

126,000 円 D

支払うべき指定手数料
の数（上限は10）
（注4）

1指定当たりの手数料
（円）

B及びDに記入した金額を加算し、合計額をIに記入

199,000 円 I

4. 納付すべき手数料の合計

T+S及びIに記入した金額を加算し、合計額を合計に記入

294,000 円

合 計

（注1）送付手数料及び調査手数料については、合計金額を特許印紙をもって納付しなければならない。

（注2）国際手数料については、受理官庁である日本国特許庁の長官が告示する国際事務局の口座への振込を証明する書面を提出することにより納付しなければならない。

（注3）願番第V欄でレ印を付した □ の数。

（注4）指定数を記入する。ただし、10指定以上は一律10とする。

代理人選任証

29. 09. 1999

弁理士 高橋 秀一 殿

あて名 日本国大阪府大阪市中央区道修町四丁目 1 番 1 号
名 称 武 田 薬 品 工 業 株 式 会 社
代表者 武 田 國 男



すべての国際出願に関する手続について、貴殿を代理人に選任したことに
相違ありません。

包括委任状

12. 11. 97

私儀 弁理士 内山 務 を代理人と定めて、 特許協力条約に基づく
すべての国際出願に関する一切の件を委任します。

あて名 日本国大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号

名 称 武 田 薬 品 工 業 株 式 会 社

代表者 武 田 國 男



委任状

1999 年 12 月 20 日

私議 弁理士 高橋秀一、同内山務を代理人と定めて、下記の権限を委任します。

1. 特許協力条約に基づく国際出願に関する一切の件

発明の名称

UCP-2 プロモーターおよびその用途

(2583WO0P)

2. 上記出願及び指定国の指定を取下げる件

3. 上記出願についての国際予備審査の請求に関する一切の件並びに請求及び
選択国の選択を取下げる件

あて名 兵庫県尼崎市南武庫之荘 8 丁目 2 9 番 1 0 号

エスト武庫之荘 5 0 4 号室

氏 名 豊 田 幸 生 (印)



あて名 兵庫県神戸市西区春日台七丁目 5 - 5

氏 名 小 林 真 (印)

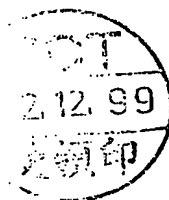


あて名 大阪府池田市五月丘 1 丁目 8 番 3 号

ジオ池田五月丘 2 番館 2 0 7 号室

氏 名 井 垣 茂 (印)





優先権証明願 (PCT)

特許庁長官殿

1. 事件の表示

平成10年特許願第366719号

2. 請求人

識別番号 000002934

住 所 大阪府中央区道修町四丁目1番1号

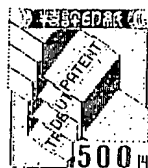
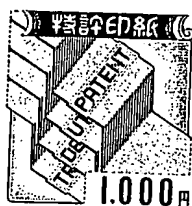
ふりがな たけだやくひんこうぎょうかぶしがいいしゃ
氏 名 武田薬品工業株式会社

代表者 たけだ くにお 武田 國男



電話番号 03-3278-2235 (担当者 矢口)

3. 出願国名 PCT



(1,500円)

P C T

国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)
[P C T 1 8 条、P C T 規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 2 5 8 3 W O O P	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(P C T / I S A / 2 2 0) 及び下記 5 を参照すること。	
国際出願番号 P C T / J P 9 9 / 0 7 1 9 8	国際出願日 (日.月.年) 2 2 . 1 2 . 9 9	優先日 (日.月.年) 2 4 . 1 2 . 9 8
出願人 (氏名又は名称) 武田薬品工業株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 (P C T 1 8 条) の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☒ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☐ 出願人が提出したものを承認する。

☒ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第47条 (P C T 規則38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

第Ⅲ欄 要約（第1ページの5の続き）

要 約 書

本発明はUCP-2のレギュレーター配列を含むプロモーター領域を含有するDNAを提供する。

本発明はアンカアップリングプロテイン-2 (UCP-2) のレギュレーター配列を含むプロモーター領域を含有するDNA、該DNAで形質転換された形質転換体、該形質転換体を用いることを特徴とするUCP-2プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法、該形質転換体を用いることを特徴とする抗肥満薬、抗糖尿病薬、降圧薬、抗高脂血症薬または解熱薬のスクリーニング方法、該形質転換体を用いることを特徴とするUCP-2プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング用キット、該スクリーニング方法または該スクリーニング用キットを用いて得られるUCP-2プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩を含有してなる医薬組成物などに関する。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ C12N 15/85, C12N 5/10, C12Q 1/00, G01N 33/50, A61K 35/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ C12N 15/00~90, C12N 5/00~28, C12Q 1/00~70, G01N 33/50~98, A61K 31/00~48/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

MEDLINE (STN), Genbank/EMBL/DBJ/GeneSeq, WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
$\frac{PX}{PY}$	Naxin Tu et al., "Molecular cloning and functional characterization of the promoter region of the human uncoupling protein-2 gene", Biochemical and Biophysical Research Communications (1999), Vol. 265, No. 2, p. 326-334	$\frac{1-7}{8-14}$
Y	WO, 98/49265, A1 (Tularik Inc.) 5.11月.1998 (05.11.98) & US, 5807740, A & AU, 9872552, A	1-14
Y	US, 5849514, A (Tularik Inc.) 15.12月.1998 (15.12.98) ファミリーなし	1-14

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28.03.00

国際調査報告の発送日

18.04.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齋藤 真由美

印

4 B

8931

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO, 98/31396, A (Duke Univerisity) 23.7月.1998 (23.07.98) & AU, 9728097, A	1 - 14

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

特許協力条約

出願人代理人

高橋 秀一

殿

あて名

〒 532-0024

大阪府大阪市淀川区十三本町2-17-85
武田薬品工業株式会社 大阪工場内

PCT

国際予備審査報告の送付の通知書

（法施行規則第57条）
〔PCT規則71.1〕

発送日
（日・月・年）

23.01.01

出願人又は代理人
の書類記号

2583WOOP

重要な通知

国際出願番号

PCT/J P 99/07198

国際出願日

（日・月・年） 22.12.99

優先日

（日・月・年） 24.12.98

出願人（氏名又は名称）

武田薬品工業株式会社

1. 国際予備審査機関は、この国際出願に関して国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、それらをこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。
2. 国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、すべての選択官庁に通知するために、それらの写しを国際事務局に送付する。
3. 選択官庁から要求があったときは、国際事務局は国際予備審査報告（付属書類を除く）の英語の翻訳文を作成し、それをその選択官庁に送付する。
4. 注 意

出願人は、各選択官庁に対し優先日から30月以内に（官庁によってはもっと遅く）所定の手続（翻訳文の提出及び国内手数料の支払い）をしなければならない（PCT39条（1））（様式PCT/IB/301とともに国際事務局から送付された注を参照）。

国際出願の翻訳文が選択官庁に提出された場合には、その翻訳文は、国際予備審査報告の付属書類の翻訳文を含まなければならない。

この翻訳文を作成し、関係する選択官庁に直接送付するのは出願人の責任である。

選択官庁が適用する期間及び要件の詳細については、PCT出願人の手引き第Ⅱ巻を参照すること。

名称及びあて名

日本国特許庁（IPEA/J P）

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員

特許庁長官

4B

9358

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

様式PCT/IPEA/416（1992年7月）

（添付用紙の注意書きを参照）



注 意

1. 文献の写しの請求について

国際予備審査報告に記載された文献であって国際調査報告に記載されていない文献の複写

特許庁にこれらの引用文献の写しを請求することができますが、日本特許情報機構でもこれらの引用文献の複写物を販売しています。日本特許情報機構に引用文献の複写物を請求する場合は下記の点に注意してください。

〔申込方法〕

(1) 特許（実用新案・意匠）公報については、下記の点を明記してください。

○特許・実用新案及び意匠の種類

○出願公告又は出願公開の年次及び番号（又は特許番号、登録番号）

○必要部数

(2) 公報以外の文献の場合は、下記の点に注意してください。

○国際予備審査報告の写しを添付してください（返却します）。

〔申込み及び照会先〕

〒100 東京都千代田区霞が関3-4-2 商工会館・弁理士会館ビル
財団法人 日本特許情報機構 サービス課
TEL 03-3503-3900

注) 特許庁に対して文献の写しの請求をすることができる期間は、国際出願日から7年です。

2. 各選択官庁に対し、国際出願の写し（既に国際事務局から送達されている場合は除く）及びその所定の翻訳文を提出し、国内手数料を支払うことが必要となります。その期限については各国ごとに異なりますので注意してください。（条約第22条、第39条及び第64条(2)(a)(i)参照）

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)

〔PCT36条及びPCT規則70〕

出願人又は代理人 の書類記号 2583WOOP	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/07198	国際出願日 (日.月.年) 22.12.99	優先日 (日.月.年) 24.12.98
国際特許分類 (IPC) Int.Cl ¹ C12N15/85, C12N5/10, C12Q1/00, G01N33/50, A61K35/00		
出願人 (氏名又は名称) 武田薬品工業株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で _____ ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☒ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 31.01.00	国際予備審査報告を作成した日 12.01.01	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 小暮 道明	4B 9358
電話番号 03-3581-1101 内線 3448		

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (1998年7月)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT 19条の規定に基づき補正されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☒ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲	2, 3, 6, 8-14	有
請求の範囲	1, 4, 5, 7	無

進歩性(IS)

請求の範囲	12-14	有
請求の範囲	1-11	無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲	1-14	有
請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

<請求の範囲第1-7項について>

- 【引用文献】 1. US, 5807740, A (05.01.1998)
2. US, 5849514, A (16.12.1998)

引用文献1, 2には、UCP-2のレギュレーター配列を含むプロモーター領域を含有するDNAであり、しかも本願明細書の配列番号1で示される塩基配列の第1762番目～第2280番目までの塩基配列と一致する塩基配列を有するDNA(請求の範囲第4項に記載の「その一部」に相当すると認める)、該DNAを含有する組み換えベクター、及び学組み換えベクターの組み込まれた形質転換体が記載されている。

したがって、請求の範囲第1, 4, 5, 7に記載の本願発明は、引用文献1, 2記載の発明と実質的に同一と認める。

また、レギュレーター配列として特定のものを選択したとしても、該特定のものを選択したことにより、引用文献1, 2記載の発明からは想到死得ないほどの顕著な効果を奏することを客観的に確認されない以上、該特定のものを選択したことにも、格別の困難性は認められない。

さらに、引用文献1, 2記載のDNAはレギュレーター配列を含むプロモーター領域であることにより、該領域を含むベクターを発現ベクターとし、該領域(発現制御)下に構造遺伝子を含む組み換えベクターを作成することも、当業者が容易に想到し得たことと認める。

<請求の範囲第8-11項について>

一般に、プロモーター活性は多くの場合3'下流域の塩基配列に影響されないことからmRNAを勘弁に測定することにより、該プロモーター活性を促進又は阻害する等の物質をスクリーニング(プロモーターの活性測定)により可能であることは、本願出願当時慣用技術であったと認める。

したならば、引用文献1, 2記載のDNAのプロモーターの促進又は阻害物質を検出する目的で、上記慣用技術を適用し、UCP-2のレギュレーター配列を含むプロモーター活性を促進又は阻害する物質をスクリーニングにより得ようとすることは、当業者が容易に想到し得たことと認める。

VIII. 国際出願に対する意見

請求の範囲、明細書及び図面の明瞭性又は請求の範囲の明細書による十分な裏付についての意見を次に示す。

<請求の範囲第12-14項について>

一般に、所望の性質を特定することのみで、その性質を有する化合物自体を把握することは困難である。したがって、化学構造などの有効成分を得るための手がかりが記載されていない明細書は、発明の実施に必要な有効成分の入手課程において、無数の化合物を製造、スクリーニングして、当該性質を有するか否かを確認するという当業者に期待し得る程度を越える試行錯誤を求めるものであり、当業者が発明を実施することができる程度に明確かつ十分に記載されていないものと判断される。

これを本願明細書についてみると、請求の範囲第8、9項に記載のスクリーニング方法により得られる化合物の具体例は、何ら記載されていない、さらに該当化合物を得るための化学構造などの手がかりも何ら記載されておらず、かつ、それが出願時に当業者に推認できたものとも認められない。

したがって、請求の範囲第12-14項に係る発明に関し、請求の範囲第8、9項に記載のスクリーニング方法により得られる化合物を当業者は理解できず、発明の実施にあたり、無数の化合物を製造・スクリーニングして確認するという、当業者に期待し得る程度を越える試行錯誤を求めるものである。

よって、発明の詳細な説明には、請求の範囲第12-14項に係る発明を、当業者が実施できる程度に明確かつ十分に記載されていない。

12-T
Translation

09/869098

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

TECH CENTER 1600/2900

NOV 06 2001

RECEIVED

Applicant's or agent's file reference 2583WO0P	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP99/07198	International filing date (day/month/year) 22 December 1999 (22.12.99)	Priority date (day/month/year) 24 December 1998 (24.12.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/85, 5/10, C12Q 1/00, G01N 33/50, A61K 35/00		
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.	
2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet.	
<input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of _____ sheets.	
3. This report contains indications relating to the following items: I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application	

Date of submission of the demand 31 January 2000 (31.01.00)	Date of completion of this report 12 January 2001 (12.01.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07198

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☒ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 99/07198

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	2, 3, 6, 8-14	YES
	Claims	1, 4, 5, 7	NO
Inventive step (IS)	Claims	12-14	YES
	Claims	1-11	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-14	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Claims 1-7

Documents cited

1. US, 5807740, A (05.01.98)

2. US, 5849514, A (16.12.98)

Documents 1 and 2 disclose DNA containing a promoter region which includes a UCP-2 regulator sequence and has a nucleotide sequence which coincides with bases 1762 to 2280 of the nucleotide sequence indicated in SEQ ID NO: 1 in the description of the present application (corresponding to "part thereof" in the claims and page 4), and also discloses a recombinant vector containing said DNA and a transformant incorporating said recombinant vector.

Therefore, the inventions described in Claims 1, 4, 5 and 7 of the present application are essentially the same as the inventions disclosed in Documents 1 and 2.

The selection of the specified sequences as the regulator sequence also does not offer any marked advantageous effect that could not be predicted from the inventions disclosed in Documents 1 and 2, and it would not be especially difficult to select said specific sequences.

Moreover, since the DNA disclosed in Documents 1 and 2 is a promoter region which includes a regulator

sequence, a person skilled in the art could easily conceive of using a vector including said region as an expression vector, and of constructing a recombinant vector which included a structural gene (the expression of which is) controlled by said region.

Claims 8-11

It is possible to identify substances which promote or inhibit the activity of a promoter by screening (determining promoter activity), by simply determining mRNA, because in most cases said promoter activity does not exert an effect on the nucleotide sequence in the 3' downstream region, and this was conventional practice at the time of filing this application.

Therefore, a person skilled in the art could easily conceive of applying the conventional practice above for the purpose of detecting substances which promote or inhibit a DNA promoter disclosed in Document 1 or 2, and use screening to obtain substances which promote or inhibit the activity of a promoter which includes a UCP-2 regulator.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

Claims 12-14

When only a desired quality is specified it is commonly difficult to grasp what actual compounds have this quality. Therefore, when the description provides no clue such as a chemical structure for identifying active ingredients, it can be judged not to provide a clear and sufficiently detailed description to allow a skilled man to carry out the invention, because it requires a greater capacity for trial and error than can be expected of a person skilled in the art to prepare and screen an infinite number of compounds in order to confirm whether they have the quality in question in the process of obtaining an active ingredient necessary to carrying out the invention.

This applies to the description of the present application, which does not give any specific example of compounds which can be obtained by the screening method of Claims 8 and 9, or any clue such as a chemical structure in order to identify such compounds; and these were not capable of being inferred by a person skilled in the art at the time of filing.

The invention described in Claims 12-14 of compounds obtained by the screening method described in Claims 8 and 9 is therefore not understandable to a person skilled in the art, and the confirmation thereof requires greater capacity for trial and error than can be expected of a person skilled in the art, to prepare and screen an infinite number of compounds.

Therefore, the invention described in Claims 12-14 is not described clearly or in sufficient detail in the description to enable a skilled man to carry it out.

PATENT COOPERATION TREATY
PCT
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT
(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 2583WO0P	FOR FURTHER ACTION		See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/JP99/07198	International filing date (day/month/year) 22/12/1999	Priority date (day/month/year) 24/12/1998	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC Int. C1⁷ C12N15/85, C12N5/10, C12Q1/00, G01N33/50, A61K35/00			
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.			

1. This international preliminary examining report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
 2. This REPORT consists of a total of 4 sheets, including this cover sheet.
- ☐ This report is also accompanied by ANNEAXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- | | | |
|------|-------------------------------------|---|
| I | <input checked="" type="checkbox"/> | Basis of the report |
| II | <input type="checkbox"/> | Priority |
| III | <input type="checkbox"/> | Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability |
| IV | <input type="checkbox"/> | Lack of unity of invention |
| V | <input checked="" type="checkbox"/> | Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement |
| VI | <input type="checkbox"/> | Certain documents cited |
| VII | <input type="checkbox"/> | Certain defects in the international application |
| VIII | <input checked="" type="checkbox"/> | Certain observations on the international application |

Date of submission of the demand 31/01/2000	Date of completion of this report 12/1/2001
Name and mailing address of the international preliminary examining authority: Japanese Patent Office (IPEA/JP) 4-3, Kasumigaseki 3-chome, Chiyoda-ku, TOKYO 100-8915 JAPAN	Authorized officer KOGURE Michiaki Telephon No. 03 3581 1101 3448

INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

International application No. PCT/JP99/06283

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial

applicability; citations and explanations supporting such statement

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application N . PCT/JP99/07198

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (substitute sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17).):

☒ International Filing Document as originally filed

Description, pages:

- ☐ as originally filed
☐ as received on with letter of

Claims, No:

- ☐ as originally filed
☐ as received on with letter of

Drawings No:

- ☐ as originally filed
☐ as received on with letter of

Sequence Listing

- ☐ as originally filed
☐ as received on with letter of

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3 (b)).
☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
☐ filed together with the international application in computer readable form.
☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
☒ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
☐ the claims, Nos.:
☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2c):

(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application N . PCT/JP99/07198

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	2,3,6,8-14
	No:	Claims	1,4,5,7
Inventive Step (IS)	Yes:	Claims	12-14
	No:	Claims	1-11
Industeial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-14
	No:	Claims	

2. Citations and explanations

See a separate sheet No.1

Sheet No.1

<Claims 1-7>

[Cited References] 1. US, 5807740, A (05.01.1998)
 2. US, 5849514, A (16.12.1998)

Cited References 1 and 2 describe DNA containing a promoter region including a UCP-2 regulator sequence, and describe DNA having a base sequence that matches with ID Nos. 1762~2280 of the nucleotide sequence represented by SEQ ID NO.: 1 in the specification of the present application (deemed to correspond to the expression "a part thereof" in claim 4), and a recombinant vector containing said DNA, and a transformant to which said recombinant vector is incorporated therein.

Therefore, the present invention described in claims 1, 4, 5 and 7 is deemed to be substantially the same as the inventions described in Cited References 1 and 2.

Even if a specific regulator sequence is selected, it is not deemed to be particularly difficult to make such selection, since a prominent advantage unimaginable from the inventions described in Cited References 1 and 2 cannot be objectively confirmed as a result of the selection of such specific regulator sequence.

Further, it is believed that, in light of the fact that the DNA described in Cited References 1 and 2 is a promoter region including a regulator sequence, a person skilled in the art could have easily achieved the preparation of a recombinant vector containing a structural gene under said region (expression control) by making a vector containing said region to be an expression vector.

<Claims 8-11>

It is deemed to have been a conventional art at the time of filing of the present application that simple measurement of mRNA is enabled by screening (promoter activity measurement) substances that promote or inhibit such promoter activity, in view of the fact that the promoter activity is often uninfluenced by the nucleotide sequence of the 3' downstream region.

Accordingly, it is believed that a person skilled in the art could have easily thought out to obtain a substance for promoting or inhibiting the promoter activity

containing a UCP-2 regulator sequence through screening, applying the aforementioned conventional art for the purpose of detecting the promoting/inhibiting substance for the promoter of the DNA described in Cited References 1 and 2.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/JP99/07198

Re Item VIII Opinion on International Application

The following opinion relates to the clarity of the claims, specification and drawings, or to the sufficient verification of the claims in the specification.

See a separate sheet No. 2

Sheet No.2

<Claims 12-14>

Generally, by merely specifying a desired property, it is difficult to figure out whether the compound itself has such property. If a specification does not provide sufficient keys, such as chemical constitutions, for obtaining active substances necessary for working the invention, such active substances cannot be obtained without demanding exorbitant procedures to manufacture and screen an infinite number of compounds and then confirm whether the compounds have the desired property, which clearly exceeds a level that can be expected to those skilled in the art, and such specification will be judged to lack clear and sufficient description for enabling those skilled in the art to work the invention.

When applying this to the specification of the present application, it does not provide any specific examples of compounds that can be obtained by the screening method according to claims 8 and 9, or any keys such as chemical constitution for obtaining such compounds. Further, it is deemed that neither such examples of compounds nor keys could have been speculated by a person skilled in the art at the time of filing of the present application.

Therefore, with respect to the invention according to claims 12-14, those skilled in the art will not be able to comprehend the compound that can be obtained by the screening method of claims 8 and 9, and will be obliged, for working the invention, to manufacture and screen an infinite number of compounds and then confirm whether the compounds have the desired property or not, which would exceed a level that can be expected to those skilled in the art.

Accordingly, the Detailed Description of the Invention does not clearly and sufficiently describes the invention according to claims 12-14 in such an extent to enable a person skilled in the art to work the invention.



PCT

特許協定に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類 C12N 15/85, 5/10, C12Q 1/00, G01N 33/50, A61K 35/00</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO00/39315</p> <p>(43) 国際公開日 2000年7月6日(06.07.00)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/07198</p> <p>(22) 国際出願日 1999年12月22日(22.12.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平10/366719 1998年12月24日(24.12.98) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.)(JP/JP) 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 豊田幸生(TOYODA, Yukio)(JP/JP) 〒661-0033 兵庫県尼崎市南武庫之荘8丁目29番10号 エスト武庫之荘504号室 Hyogo, (JP) 小林 真(KOBAYASHI, Makoto)(JP/JP) 〒651-2276 兵庫県神戸市西区春日台七丁目5-5 Hyogo, (JP) 井垣 茂(IGAKI, Shigeru)(JP/JP) 〒563-0029 大阪府池田市五月丘1丁目8番3号 ジオ池田五月丘2番館207号室 Osaka, (JP)</p>		<p>(74) 代理人 弁理士 高橋秀一, 外(TAKAHASHI, Shuichi et al.) 〒532-0024 大阪府大阪市淀川区十三本町 2丁目17番85号 武田薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AE, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, US, UZ, VN, YU, ZA, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54)Title: UCP-2 PROMOTER AND USE THEREOF</p> <p>(54)発明の名称 UCP-2プロモーターおよびその用途</p> <p>(57) Abstract A DNA which contains a promoter region containing the regulator sequence of UCP-2. Namely, a DNA which contains a promoter region containing the regulator sequence of an uncoupling protein-2 (UCP-2); a transformant transformed by this DNA; a method for screening a compound promoting or inhibiting the UCP-2 promoter activity or its salt characterized by using the above transformant; a method for screening an antiobestic drug, an antidiabetic drug, a hypotensive drug, an antihyperlipidemic drug or an antipyretic drug characterized by using the above transformant; a kit for screening a compound promoting or inhibiting the UCP-2 promoter activity or its salt characterized by using the above transformant; medicinal compositions containing a compound promoting or inhibiting the UCP-2 promoter activity or its salt obtained by using the above screening method or screening kit, etc.</p>		

本発明はUCP-2のレギュレーター配列を含むプロモーター領域を含有するDNAを提供する。

本発明はアンカップリングプロテイン-2(UCP-2)のレギュレーター配列を含むプロモーター領域を含有するDNA、該DNAで形質転換された形質転換体、該形質転換体を用いることを特徴とするUCP-2プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法、該形質転換体を用いることを特徴とする抗肥満薬、抗糖尿病薬、降圧薬、抗高脂血症薬または解熱薬のスクリーニング方法、該形質転換体を用いることを特徴とするUCP-2プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング用キット、該スクリーニング方法または該スクリーニング用キットを用いて得られるUCP-2プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩を含有してなる医薬組成物などに関する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AG	アンティグア・バーブーダ	DZ	アルジェリア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AL	アルバニア	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LS	レソト	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	MA	モロッコ	TD	チャード
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	GW	ギニア・ビサウ			TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	HR	クロアチア	ML	マリ	TZ	タンザニア
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UG	ウクライナ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UA	ウクライナ
CH	スイス	IE	アイルランド	MW	マラウイ	US	米国
CI	コートジボワール	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IN	インド	MZ	モザンビーク	VN	ヴェトナム
CN	中国	IS	アイスランド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラヴィア
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NL	オランダ	ZA	南アフリカ共和国
CY	キプロス	JP	日本	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CZ	チェコ	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド		
DE	ドイツ	KG	キルギスタン	PL	ポーランド		
DK	デンマーク	KP	北朝鮮	PT	ポルトガル		
		KR	韓国	RO	ルーマニア		

明 細 書

UCP-2プロモーターおよびその用途

5 技術分野

本発明は遺伝子発現用新規プロモーターおよびその用途に関する。具体的には、ヒトアンカップリングプロテイン-2 (UCP-2) 遺伝子のプロモーター領域を含有するDNA、当該DNAで形質転換された形質転換体、UCP-2プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法などに関する。

10

背景技術

アンカップリングプロテイン(UCP)は、ミトコンドリア内膜に存在するプロトントランスポーターである。細胞内に脂肪として貯蔵されたエネルギーを他のエネルギー消費過程を経ずに熱化できることから、恒温動物の体温維持において重要な働きをしていると考えられている。また、このような機能を有していることから恒温動物のエネルギー代謝効率を決定する重要な因子の一つであると考えられている。

アンカップリングプロテインには、現在のところ三種の分子が同定され、各々アンカップリングプロテイン-1 (UCP-1)、アンカップリングプロテイン-2 (UCP-2) 或いは、UCP-3とも称される)、アンカップリングプロテイン-3 (UCP-3) と呼ばれている。

アンカップリングプロテインファミリーの中で最初に単離されたUCP-1は、褐色脂肪細胞に特異的に発現している (Line, C. S. とKlingenberg, M. (1980) FEBS Lett., 113, 299-303, Jacobsson, A. ら (1985) J. Biol. Chem., 260, 16250-16254, Bouillaud, F. ら (1986) J. Biol. Chem., 261, 1487-1490)。UCP-2は、UCP-1のホモログとして単離され、様々な臓器で広く発現していることが確認された (Gimeno, R. E. ら (1997) Diabetes, vol. 46, 900-906, Fleury, C. ら (1997) Nature Genet., vol. 15, 269-272)。また、筋肉に特異的に発現するUCPとしてUCP-3は単離された (Vidal-Puig, A. ら (1997) Biochem. Biophys. Res. Commun., vol. 235, No. 1, 79-82, Boss, O. ら (1997) FEBS Lett., 408,

33-38)。

一般的にUCP-1は、齧歯類や冬眠をする動物の体温維持に重要な役割を果たしていると考えられている。その根拠として身体のサイズが大きい動物および、比較的温暖な気候に生息している動物種は、UCP-1を主に発現する褐色脂肪細胞の数は
5 少ないことがあげられる (Rothwell, N. J. と Stock, M. J. (1979) *Nature*, vol. 281, 31-35)。このことからヒトを含むこれらの動物では、UCP-1ではなく、UCP-2または、UCP-3が、通常の体温維持機構やエネルギー消費過程の制御を中心的に担っていると考えられている (細田公則ら (1998) *肥満研究*, vol. 4, No. 3, 31-35, Sven Enerbackら (1997) *Nature*, vol. 387, 90-93)。

10 従って、ヒトを含むこれらの動物では、UCP-2あるいは、UCP-3の遺伝子発現あるいは、活性を調節する事によりエネルギー消費/蓄積のバランスを調整する事が可能であると考えられる (細田公則ら (1998) *肥満研究*, vol. 4, No. 3, 31-35, Enerback, S. ら (1997) *Nature*, vol. 387, 90-93)。ヒトにおいては、エネルギー消費を亢進することは、食物から摂取したエネルギーの消費促進のみならず、脂肪と
15 して蓄積されたエネルギーの消費の促進を促すと考えられている。従って、ヒトにおける体脂肪の減少は、近年先進諸国で問題となっている生活習慣病の主要因である肥満状態の改善につながると考えられている (Fleury, C. ら (1997) *Nature Genetics*, vol. 15, 269-272)。

さらにUCP-2は、感染等の免疫炎症の際に観られる発熱の主要因であるとも考えられており、UCP-2の遺伝子活性を抑制することにより免疫炎症時の発熱を軽減させることが可能と考えられている (Shigenaga, F. R. ら (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 244, No. 1, 75-78)。
20

また、動物、特に高等動物では、その発生時より各器官の分化、成熟がおこり生体の各種機能を発揮せしめるようになる。この過程で種々の器官特異的なタンパク質の一過性の、あるいは恒常的な発現が起こり、器官に特異性を付与することとなる。
25

一般的な動物での遺伝子発現の制御機構としては、転写誘導系 (プロモーター・エンハンサー) が存在する。プロモーター領域は、染色体遺伝子上の通常メッセンジャーRNAへと転写が行われる塩基配列の5'上流域に隣接して存在し、このプ

ロモーター領域の一般にレギュレーター配列と称される塩基配列に転写制御因子としての蛋白質が結合もしくは、結合している蛋白質が乖離することにより3'下流域にある遺伝子の転写量を調節している。従って、転写段階での遺伝子発現量は、プロモーターの活性を測定することによりある程度、推定できる。また、プロモーターの活性は、多くの場合3'下流域の塩基配列に影響されないことも知られていることから、転写するメッセンジャーRNAを検出可能な酵素活性等を有する蛋白質(以下、レポーターと称する)をコードする塩基配列に置換する事により簡便に測定することが可能である。このレポーターを用いたプロモーターの活性測定は、近年の技術革新により非常に高感度かつ簡便なものとなっており、薬物のスクリーニングや、生体機能の解析に利用されている。

例えば、脂肪細胞分化の転写制御因子としてPPAR γ (Peroxisome Proliferation-activated Receptor γ) (Tontontz, P. ら (1995) Curr. Opin. Genet. Dev., Vol. 5, 571-576)、RXR(Retinoid X Receptor)、C/EBP(CCAAT/enhancer binding protein) (Cornelius, P. ら (1994) Annu. Rev. Nutr., Vol. 14, 99-129)などがあげられる。脂肪細胞に関連する遺伝子の発現にはこれらの転写制御が深く関わっている事がわかっている。UCP-2を含む脂肪細胞関連遺伝子のプロモーター領域にはこれらの転写制御因子の結合配列(レギュレーター配列)があることが報告されている。プロモーター内のこれらの配列は実際の生体内におけるUCP-2の転写制御に重要な役割を果たしていると考えられる。

従って、UCP-2あるいは、UCP-3の遺伝子および蛋白の発現を亢進させる物質は、体脂肪含量を低下させる抗肥満薬となりうる。またUCP-2は、感染等の免疫炎症の際に観られる発熱の主要因であるとも考えられており、UCP-2の遺伝子活性を抑制する物質は免疫炎症時の発熱を軽減させ得る。

上記プロモーター部分に適当なレポーター遺伝子を結合させ、これが発現するような細胞株を樹立すれば、UCP-2の発現を促進もしくは抑制する作用を持つ薬剤のスクリーニング法として使用できる。抗肥満薬となりうる物質をスクリーニングする場合、プロモーター-レポーター系にこれらのレギュレーター配列が含まれることでより生体内により近い反応性を得ることができ、ヒトの抗肥満薬のスクリーニングにおいて、非常に有利である。

しかし、現在まで、レギュレーター配列を含むヒトUCP-2プロモーターは同定されておらず上述のようなプロモーターを用いたヒトUCP-2遺伝子発現作用物質を簡便にスクリーニング可能な方法は存在しなかった。

5 発明の開示

本発明者らは、鋭意研究を重ねた結果、UCP-2遺伝子発現作用物質を探索するスクリーニング方法の確立を目指して、ヒトUCP-2 cDNA断片をプローブとしてヒトUCP-2ゲノム遺伝子を取得することに成功した。この遺伝子を制限酵素消化してUCP-2をコードしている構造遺伝子の一部を含むその上流部分6.5kb DNAを取得した。このうち、第1exon、第2exonと推定される塩基配列を含む3.5kb DNA (5'上流域としては2.5kb DNA)を再びプラスミドDNA上にクローニングした。

この3.5kb DNAの下流に、レポーター遺伝子としてルシフェラーゼ遺伝子を連結したプラスミドDNAを構築し、該DNAで形質転換されたHepG2細胞及び脂肪細胞様細胞に分化させたMG-63細胞の形質転換体でのルシフェラーゼ活性を測定することにより、UCP-2構造遺伝子上流部分3.3kb DNAに、UCP-2プロモーターを見出すことが出来た。さらに詳細な解析の結果、UCP-2の発現を制御していると思われるレギュレーター配列を見いだした。

本発明者らは、これらの知見に基づきさらに研究した結果、本発明を完成した。
すなわち本発明は、

(1) アンカッピングプロテイン-2 (UCP-2) のレギュレーター配列を含むプロモーター領域を含有するDNA、

(2) レギュレーター配列が PPRE (Peroxisome Proliferator Response Element) を含有する配列である上記 (1) 記載のDNA、

25 (3) レギュレーター配列が C/EBP (CCAAT/Enhancer Binding Protein) 結合配列を含有する配列である上記 (1) 記載のDNA、

(4) プロモーター領域が配列番号：1の第1番目ないし第2270番目で表される塩基配列またはその一部を含有する塩基配列で表される上記 (1) 記載のDNA、

- (5) 上記(1)記載のDNAを含有する組換えベクター、
(6) UCP-2のレギュレーター配列を含むプロモーター領域の発現制御下に構造遺伝子を有するDNAを含有する上記(5)記載の組換えベクター、
(7) 上記(5)記載の組換えベクターで形質転換された形質転換体、
5 (8) 上記(7)記載の形質転換体を用いることを特徴とするUCP-2プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法、
(9) 上記(7)記載の形質転換体を用いることを特徴とする熱産生を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法、
(10) 上記(7)記載の形質転換体を用いることを特徴とする抗肥満薬、抗糖尿病薬、降圧薬、抗高脂血症薬または解熱薬のスクリーニング方法、
10 (11) 上記(7)記載の形質転換体を用いることを特徴とするUCP-2プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング用キット、
(12) 上記(8)記載のスクリーニング方法または上記(11)記載のスクリーニング用キットを用いて得られるUCP-2プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩、
15 (13) 上記(9)記載のスクリーニング方法を用いて得られる熱産生を促進または阻害する化合物またはその塩、および
(14) 上記(8)記載のスクリーニング方法または上記(11)記載のスクリーニング用キットを用いて得られるUCP-2プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩を含有してなる医薬組成物に関する。
20

図面の簡単な説明

- 図1は実施例1でクローニングしたヒトUCP-2のプロモーター領域を含むcDNAの塩基配列を示す(図2に続く)。
25 図2は実施例1でクローニングしたヒトUCP-2のプロモーター領域を含むcDNAの塩基配列を示す(図1の続き、図2に続く)。
図3は実施例1でクローニングしたヒトUCP-2のプロモーター領域を含むcDNAの塩基配列を示す(図2の続き、図4に続く)。
図4は実施例1でクローニングしたヒトUCP-2のプロモーター領域を含むcDNA

Aの塩基配列を示す（図3の続き、図5に続く）。

図5は実施例1でクローニングしたヒトUCP-2のプロモーター領域を含むcDNAの塩基配列を示す（図4の続き、図6に続く）。

図6は実施例1でクローニングしたヒトUCP-2のプロモーター領域を含むcDNAの塩基配列を示す（図5の続き）。

図7は実施例2で行われたルシフェラーゼ活性を示す図を示す。

図8は実施例3で行われたルシフェラーゼ活性を示す図を示す。

図9は実施例4で作製されたUCP-2プロモーター欠失体の構造を示す図を示す。
図中の数値は転写開始点よりの塩基番号を示す。

図10は実施例4で行われたプロモーター活性の測定結果を示す図を示す。

発明を実施するための最良の形態

本発明のUCP-2のレギュレーター配列を含むプロモーター領域を含有するDNAは後述のレギュレーター配列を含み、UCP-2のプロモーター活性を有するDNAであればいかなるものであってもよい。

具体的には、配列番号：1の第1番目ないし第2270番目で表される塩基配列またはその一部を含有するものであればいかなるものであってもよい。

また、ヒトまたは他の哺乳動物の細胞（例えば、肝細胞、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、膵臓β細胞、骨髄細胞、メサングウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、内皮細胞、繊維芽細胞、繊維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞（例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球）、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など）もしくはそれらの細胞が存在するあらゆる組織、例えば、脳、脳の各部位（例、嗅球、扁桃核、大脳基底核、海馬、視床、視床下部、大脳皮質、延髄、小脳）、脊髄、下垂体、胃、膵臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髄、副腎、皮膚、筋肉、肺、消化管（例、大腸、小腸）、血管、心臓、胸腺、脾臓、唾液腺、末梢血、前立腺、睾丸、卵巣、胎盤、子宮、骨、軟骨、関節、骨格筋などに由来のゲノムDNA、cDNA、合成DNAのい

ずれでもよい。

本発明のヒトUCP-2のプロモーター領域を含有する組換えDNAは、具体的には、次のようにして得ることができる。

まず、既に報告されているヒトUCP-2 cDNA (Fleury, C. ら (1997) Nature Genet. Vol. 15, 269-272) のアミノ酸配列に対応する塩基配列をプローブとして例えば、EMBL3ベクターに組み込まれたヒト遺伝子ライブラリーを公知の方法でスクリーニングし、このプローブと反応するλファージのクローンを得る。このファージクローンよりDNAを抽出し、組みこまれているヒト遺伝子部分の制限酵素地図を作成し、cDNAの最上流域プローブと反応する制限酵素消化によるDNA断片を、特に限定されないが、pCDベクター、cDM8ベクター (Aruffo, A. と Seed, B. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 8573-8577)、レトロウイルスベクター (Cone, R. D. と Mulligan, R. C. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 6349-6353) など動物細胞用のもの、pUCベクター (Vieira, J. と Messing, J. (1987), Methods in Enzymology, 153, 3-11)、pCR-bluntベクター (Ausubel, F. M. ら (1994), Current Protocols in Molecular Biology) など大腸菌用のプラスミドなどに再クローニングする。クローニングしたDNAの塩基配列を決定し、例えばcDNAの塩基配列と比較検討することにより遺伝子上の翻訳開始コドンの位置を知ることができる。また、既知のcDNAの5'末端と塩基配列を比較することにより該遺伝子の転写開始点を知ることができる。また、全シーケンスのモチーフ検索を行うことで、既知の転写制御因子の結合部位を知ることができる。

得られたDNAは目的によりそのまま、または所望により制限酵素で消化したり、リンカーを付加したりして使用することができる。

さらにプロモーターの活性を調べるためにはプロモーターの下流に検出可能な構造遺伝子を連結すればよい。プロモーター領域の下流に連結される構造遺伝子としては、種々のレポーター遺伝子が用いられる。レポーター遺伝子としては、ルシフェラーゼ遺伝子、CAT (クロラムフェニコールアセチル転移酵素 (Chloramphenicol acetyl transferase) 遺伝子、アルカリフォスファターゼ遺伝子の他に、β-ガラクトシダーゼ遺伝子が汎用されているが、他のいかなる構造遺伝子であっても、その遺伝子産物の検出法があれば使用され得る。上記構造遺伝子を

ベクターに組み込むには、プロモーター領域の下流に存在する適当な制限酵素切断部位に、上記構造遺伝子が正しく転写される方向に連結すればよい。

上記組換えベクターにより形質転換する宿主としては、例えば、エシェリヒア属菌、バチルス属菌、酵母、昆虫細胞、昆虫、動物細胞などが用いられる。

- 5 エシェリヒア属菌の具体例としては、エシェリヒア・コリ (*Escherichia coli*) K12・DH1 [プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 60巻, 160(1968)], JM103 [ヌクイレック・アシッズ・リサーチ, (Nucleic Acids Research), 9巻, 309(1981)], JM109, JA2
10 21 [ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー (Journal of Molecular Biology), 120巻, 517(1978)], HB101 [ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー, 41巻, 459(1969)], C600 [ジェネティックス (Genetics), 39巻, 440(1954)] などが用いられる。

- 15 バチルス属菌としては、例えば、バチルス・サチルス (*Bacillus subtilis*) MI114 [ジーン, 24巻, 255(1983)], 207-21 [ジャーナル・オブ・バイオケミストリー (Journal of Biochemistry), 95巻, 87(1984)] などが用いられる。

- 20 酵母としては、例えば、サッカロマイセス セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) AH22, AH22R⁻, NA87-11A, DKD-5D, 20B-12, シゾサッカロマイセス ポンベ (*Schizosaccharomyces pombe*) NCYC1913, NCYC2036, ピキア パストリス (*Pichia pastoris*) などが用いられる。

- 25 昆虫細胞としては、例えば、ウイルスがAcNPVの場合は、夜盗蛾の幼虫由来株化細胞 (*Spodoptera frugiperda* cell; Sf細胞)、*Trichoplusia ni*の中腸由来のMG1細胞、*Trichoplusia ni*の卵由来のHigh FiveTM細胞、*Mamestra brassicae*由来の細胞または*Estigmena acrea*由来の細胞などが用いられる。ウイルスがBmNPVの場合は、蚕由来株化細胞 (*Bombyx mori* N; BmN細胞) などが用いられる。該Sf細胞としては、例えば、Sf9細胞 (ATCC CRL1711)、Sf21細胞 (以上、Vaughn, J.L. ら、イン・ヴィボ (In Vivo), 13, 213-217(1977))

などが用いられる。

昆虫としては、例えば、カイコの幼虫などが用いられる〔前田ら、ネイチャー (Nature), 315巻, 592(1985)〕。

動物細胞としては、例えば、サル細胞COS-7, Vero, チャイニーズハムスター細胞CHO (以下、CHO細胞と略記), dhfr遺伝子欠損チャイニーズハムスター細胞CHO (以下、CHO(dhfr⁻)細胞と略記), マウスL細胞, マウスAtT-20, マウスミエローマ細胞, ラットGH3, マウス繊維芽細胞3T3-L1, ヒト肝臓ガン細胞HepG2 (以下、HepG2細胞と略記), ヒト骨肉腫細胞MG-63 (以下、MG-63細胞と略記), ヒトFL細胞、白色脂肪細胞、卵細胞、ES細胞 (Evans, M. J. とKaufman, K. H. (1981) Nature, 292, 154), また適当な分化条件により分化誘導された細胞などが用いられる。

なかでも、動物細胞、特に白色脂肪細胞が用いられ得る。また動物個体へのDNA移入への一過程としての卵細胞、あるいはES細胞 (Evans, M. J. とKaufman, K. H. (1981) Nature, 292, 154) も使用される。

これらの細胞への形質転換の方法としては、リン酸カルシウム法 (Grahamら (1973) Virology, 52, 456), エレクトロポレーション法 (石崎ら (1986) 細胞工学, 5, 577), マイクロインジェクション法などが用いられる。

より具体的には、エシェリヒア属菌を形質転換するには、例えば、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 69巻, 2110(1972) やジーン (Gene), 17巻, 107(1982)などに記載の方法に従って行なうことができる。

バチルス属菌を形質転換するには、例えば、モレキュラー・アンド・ジェネラル・ジェネティックス (Molecular & General Genetics), 168巻, 111(1979)などに記載の方法に従って行なうことができる。

酵母を形質転換するには、例えば、メツソズ・イン・エンザイモロジー (Methods in Enzymology), 194巻, 182-187 (1991), プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 75巻, 1929(1978) など

に記載の方法に従って行なうことができる。

昆虫細胞または昆虫を形質転換するには、例えば、バイオ／テクノロジー (Bio/Technology), 6, 47-55 (1988) などに記載の方法に従って行なうことができる。

- 5 動物細胞を形質転換するには、例えば、細胞工学別冊 8 新細胞工学実験プロトコール, 263-267 (1995) (秀潤社発行)、ヴィロロジー (Virology), 52 巻, 456 (1973) に記載の方法に従って行なうことができる。

- 上記形質転換体は、特定の化合物の存在下に培養し、培養物中の遺伝子産物の量を測定し比較することにより、該化合物のプロモーター活性のコントロール能を知ることができる。

- 10 該形質転換体の培養はそれ自体公知の方法で行なう。宿主がエシェリヒア属菌、バチルス属菌である形質転換体を培養する際、培養に使用される培地としては液体培地が適当であり、その中には該形質転換体の生育に必要な炭素源、窒素源、無機物その他が含有せしめられる。炭素源としては、例えば、グルコース、デキストリン、可溶性澱粉、ショ糖など、窒素源としては、例えば、アンモニウム塩類、硝酸塩類、コーンスチープ・リカー、ペプトン、カゼイン、肉エキス、大豆粕、バレイショ抽出液などの無機または有機物質、無機物としては、例えば、塩化カルシウム、リン酸二水素ナトリウム、塩化マグネシウムなどが挙げられる。また、酵母エキス、ビタミン類、生長促進因子などを添加してもよい。培地の pH は約 5 ~ 8 が望ましい。

- 20 エシェリヒア属菌を培養する際の培地としては、例えば、グルコース、カザミノ酸を含む M9 培地 [ミラー (Miller), ジャーナル・オブ・エクスペリメンツ・イン・モレキュラー・ジェネティックス (Journal of Experiments in Molecular Genetics), 431-433, Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1972] が好ましい。ここに必要によりプロモーターを効率よく働かせるために、例えば、3 β -インドリル・アクリル酸のような薬剤を加えることができる。宿主がエシェリヒア属菌の場合、培養は通常約 15 ~ 43℃ で約 3 ~ 24 時間行ない、必要により、通気や攪拌を加えることもできる。

宿主がバチルス属菌の場合、培養は通常約 30 ~ 40℃ で約 6 ~ 24 時間行な

い、必要により通気や攪拌を加えることもできる。

宿主が酵母である形質転換体を培養する際、培地としては、例えば、バークホルダー (Burkholder) 最小培地 [Bostian, K. L. ら、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 77巻, 4505(1980)] や0.5% カザミノ酸を含有するSD培地 [Bitter, G. A. ら、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 81巻, 5330(1984)] が挙げられる。培地のpHは約5~8に調整するのが好ましい。培養は通常約20℃~35℃で約24~72時間行ない、必要に応じて通気や攪拌を加える。

宿主が昆虫細胞または昆虫である形質転換体を培養する際、培地としては、Grace's Insect Medium (Grace, T. C. C., ネイチャー (Nature), 195, 788(1962)) に非動化した10%ウシ血清等の添加物を適宜加えたものなどが用いられる。培地のpHは約6.2~6.4に調整するのが好ましい。培養は通常約27℃で約3~5日間行ない、必要に応じて通気や攪拌を加える。

宿主が動物細胞である形質転換体を培養する際、培地としては、例えば、約5~20%の胎児牛血清を含むMEM培地 [サイエンス (Science), 122巻, 501(1952)], DMEM培地 [ヴィロロジー (Virology), 8巻, 396(1959)], RPMI 1640培地 [ジャーナル・オブ・ザ・アメリカン・メディカル・アソシエーション (The Journal of the American Medical Association) 199巻, 519(1967)], 199培地 [プロシーディング・オブ・ザ・ソサイエティ・フォー・ザ・バイオリジカル・メディシン (Proceeding of the Society for the Biological Medicine), 73巻, 1(1950)] などが用いられる。pHは約6~8であるのが好ましい。培養は通常約30℃~40℃で約15~60時間行ない、必要に応じて通気や攪拌を加える。

レギュレーター配列として具体的には、配列番号: 1中の第1番目ないし第2270番目で表される塩基配列中、UCP-2の転写制御因子が結合し得る配列であれば、いかなるものであってもよいが、例えば、配列番号: 1中の第284番目ないし第296番目で表されるPPRE(Peroxisome Proliferator Response

Element)を含有する配列、配列番号：1中の第1316番目ないし第1320番目、第1364番目ないし第1368番目または第1698番目ないし第1692番目で表されるC/EBP(CCAAT/Enhancer Binding Protein)結合配列を含有する配列、配列番号：1中の第753番目ないし第758番目、第1023番目ないし第1030番目または第1450番目ないし第1455番目で表されるGRE(Glucocorticoid Response Element)を含有する配列、配列番号：1中の第1428番目ないし第1437番目で表されるMyoDを含有する配列などがあげられる。

即ち、本発明のDNAは該レギュレーター配列を含むプロモーター領域を含有するDNAであり、本発明のDNAは該レギュレーター配列を複数個含有していてもよい。

配列番号：1の第1番目ないし第2270番目で表される塩基配列の一部を含有する塩基配列としては、上記のレギュレーター配列を含有する塩基配列であれば、いかなるものでもよいが、具体的には、配列番号：1の第255番目ないし第430番目で表される塩基配列、配列番号：1の第255番目ないし第717番目で表される塩基配列、配列番号：1の第717番目ないし第1133番目で表される塩基配列、配列番号：1の第1133番目ないし第1389番目で表される塩基配列、配列番号：1の第255番目ないし第1857番目で表される塩基配列などがあげられる。

さらに、配列番号：1の第571番目ないし第2270番目で表される塩基配列、配列番号：1の第717番目ないし第2270番目で表される塩基配列、配列番号：1の第1133番目ないし第2270番目で表される塩基配列、配列番号：1の第1389番目ないし第2270番目で表される塩基配列、配列番号：1の第1634番目ないし第2270番目で表される塩基配列などがあげられる。

本発明のDNAは、UCP-2のレギュレーター配列を含むプロモーター領域を含有するDNAであるため、上記の形質転換体を用いることによって、UCP-2プロモーターの活性を促進または阻害する化合物（例えば、熱産生を促進または阻害する化合物）またはその塩をスクリーニングすることが可能となる。以下に該スクリーニング方法、スクリーニング用キットおよびこれらスクリーニング方法、スクリーニング用キットを用いて得られるUCP-2プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩について具体的に説明する。

(1) UCP-2プロモーターの活性を促進または阻害する化合物（例えば、熱産生を促進または阻害する化合物）またはその塩をスクリーニングする方法

上述の本発明のDNAで形質転換された形質転換体は、本発明のUCP-2プロモーターの活性を促進または阻害する化合物またはその塩を探索し、または決定するために有用である。

本発明のUCP-2プロモーターの活性を促進または阻害する化合物またはその塩の決定方法においては、本発明の形質転換体を試験化合物と接触させた場合と本発明のUCP-2プロモーター領域を含有しない形質転換体を試験化合物と接触させた場合のポリペプチドの発現量を測定し比較することなどを特徴とする。

該試験化合物としては、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

発現されるポリペプチドとしては、上記の構造遺伝子（好ましくはレポーター遺伝子）がコードするポリペプチドなどが用いられる。

ポリペプチドの発現量の測定方法としては、例えば、Brasier, A. R. ら (1989) Biotechniques vol. 7, 1116-1122の記載に準じた方法により、ルシフェラーゼ活性を測定することなどがあげられる。

(2) UCP-2プロモーターの活性を促進または阻害する化合物（例えば、熱産生を促進または阻害する化合物）またはその塩をスクリーニングするために用いるスクリーニング用キット

本発明のUCP-2プロモーターの活性を促進または阻害する化合物またはその塩の決定用キットは、上述の形質転換体を用いることを特徴とするが、本発明のUCP-2プロモーターの活性を促進または阻害する化合物またはその塩の決定用キットの例としては、次のものが挙げられる。

①スクリーニング試薬

1. 細胞培養用培地

Dulbecco's modified Eagle's MEM(ギブコ社製)にウシ胎仔血清(ギブコ社製)を10%添加したもの。

2. 細胞分化用培地

Dulbecco's modified Eagle's MEM(ギブコ社製)にウサギ血清(ギブコ社製)を 5% 添加したもの。

3. UCP-2 プロモーター活性測定用プラスミド

本発明の UCP-2 プロモーター配列および UCP-2 プロモーターの下流に構造遺伝子
5 (例、ルシフェラーゼ遺伝子)を挿入した pGL3-basic(プロメガ社製)プラスミド DNA

4. 宿主細胞株

MG-63 細胞(骨肉腫細胞株:ATCC より入手)

5. 試験化合物

- 10 水溶液の状態のものを 4℃あるいは -20℃にて保存し、用時に細胞分化培養用
培地にて 1 μ M に希釈する。水に難溶性を示す試験化合物については、ジメチル
ホルムアミド、DMSO、メタノール等に溶解する。

②スクリーニング法

- 15 宿主細胞株を 96 穴マイクロプレートに 1×10^5 /穴ずつ播種し、一晚 37℃、5% CO₂
孵卵器で培養する。

本発明の UCP-2 プロモーター活性測定用プラスミドを 1 μ g/穴ずつ、細胞内に導
入する。

導入後、1 時間で試験化合物を 0.1ml/穴ずつ添加し、37℃、5% CO₂孵卵器で 48
時間培養する。

- 20 培養後、ピッカジーンLT(東洋インキ社製)を 0.1ml/穴ずつ加え 5 分攪拌後、96 穴プ
レート測定装置(アマシャム-ファルマシア社製)で発光活性を測定する。

(3) 上記(1)のスクリーニング方法または(2)のスクリーニング用キット
を用いて得られる UCP-2 プロモーター活性を促進または阻害する化合物(例
えば、熱産生を促進または阻害する化合物)またはその塩。

- 25 上記(1)のスクリーニング方法または(2)のスクリーニング用キットを用
いて得られる UCP-2 のプロモーター活性を上昇・促進する化合物が見いだせ
れば、該化合物は熱産生を上昇・促進させることから肥満症候群などの予防・治療
剤となる。ひいてはいわゆる生活習慣病(糖尿病、高血圧、高脂血症など)など
の根治治療剤としても用いられる。即ち、抗肥満薬、抗糖尿病薬、降圧薬、抗高

脂血症薬などとして用いることができる。

また、該化合物がプロモーター活性を低下・阻害させるものであれば、該化合物は熱産生を低下・阻害することから解熱剤などとして用いることができる。

5 上記のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物の塩としては、例えば、薬学的に許容可能な塩などが用いられる。例えば、無機塩基との塩、有機塩基との塩、無機酸との塩、有機酸との塩、塩基性または酸性アミノ酸との塩などがあげられる。

10 無機塩基との塩の好適な例としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、ならびにアルミニウム塩、アンモニウム塩などがあげられる。

有機塩基との塩の好適な例としては、例えばトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、2, 6-ピリジン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン、N, N'-ジベンジルエチレンジアミンなどとの塩があげられる。

15 無機酸との塩の好適な例としては、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸などとの塩があげられる。

有機酸との塩の好適な例としては、例えばギ酸、酢酸、プロピオン酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸などとの塩があげられる。

20 塩基性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアルギニン、リジン、オルチニンなどとの塩があげられ、酸性アミノ酸との好適な例としては、例えばアスパラギン酸、グルタミン酸などとの塩があげられる。

該化合物またはその塩を上記の疾患の予防および／または治療剤として使用する場合は、常套手段に従って製剤化することができる。

25 例えば、該化合物またはその塩は、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、該化合物を生理学的に認められる公知の担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般

に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えばゼラチン、コーンスターチ、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、前記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアルコール（例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例、ポリソルベート80（TM）、HCO-50）などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

また、上記予防・治療剤は、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法など

により差異はあるが、経口投与の場合、一般的に成人（60 kgとして）においては、一日につき約0.1～100 mg、好ましくは約1.0～50 mg、より好ましくは約1.0～20 mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常成人（60 kgとして）においては、一日につき約0.01～30 mg程度、好ましくは約0.1～20 mg程度、より好ましくは約0.1～10 mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60 kg当りに換算した量を投与することができる。

本明細書および図面において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature による略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

DNA	: デオキシリボ核酸
cDNA	: 相補的デオキシリボ核酸
A	: アデニン
T	: チミン
G	: グアニン
C	: シトシン

本願明細書の配列表の配列番号は、以下の配列を示す。

〔配列番号：1〕 実施例1でクローニングしたヒトUCP-2のプロモーター領域を含むcDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：2〕 ヒトUCP-2のプロモーター領域を含むcDNAのスクリーニングに使用した合成DNAを示す。

〔配列番号：3〕 ヒトUCP-2のプロモーター領域を含むcDNAのスクリーニングに使用した合成DNAを示す。

〔配列番号：4〕 ヒトUCP-2のプロモーター領域を含むcDNAのスクリーニングに使用した合成DNAを示す。

〔配列番号：5〕 ヒトUCP-2のプロモーター領域を含むcDNAのスクリーニング

に使用した合成DNAを示す。

実施例

以下に実施例を示して、本発明をより詳細に説明するが、これらは本発明の範
5 囲を限定するものではない。

後述の実施例1で得られた形質転換体エシェリヒア コリ (Escherichia
coli) TOP10/pCR-ucp2p5' #1-10は、平成10年11月24日から通商産業省工業
技術院生命工学工業技術研究所 (N I B H) に寄託番号 F E R M B P - 6 5 8 7
として、平成10年11月11日から財団法人・発酵研究所 (I F O) に寄託番
10 号 I F O 1 6 2 1 9 として寄託されている。

実施例1 ヒトUCP-2cDNAのクローニング

ヒト腎臓cDNA 0.5ng (Clontech Laboratory California USA) を鋳型とし、先に
報告されているヒトUCP-2 cDNA (Gimeno, R. ら (1997) Diabetes, vol. 46,
15 900-906) の塩基番号55から82までの5'-ATGTTGGTTCAAGGCCACAGATGTGCCC-3' お
よび 塩基番号1300から1329に相補的な塩基配列5'-
ATACAGGCCGATGCGGACAGAGGCAAAGCT-3' のオリゴヌクレオチドプライマーを用い
PCR法 (94℃ 5min. 加熱後, 94℃ 1min. , 55℃ 0.5min. , 72℃ 1.5min. を30cycles,
その後, 72℃ 5min. 加温) によりヒトUCP-2遺伝子を増幅後, PCR-bluntベクターに
20 結合した。この結合したプラスミドDNAを鋳型として、オリゴヌクレオチドプライ
マーを作製し PCR DIG Probe Synthesis Kit (ベーリンガー・マンハイム株式会
社) を用い添付の手順書に従いプローブの調製を行った。調製したプローブを用
い、ヒトゲノミックDNAライブラリー (Clontech Laboratory, California
USA) 3x10⁶個のファージをプラークハイブリダイゼーション法によりニトロセル
25 ロースフィルターを用いてスクリーニングした。プラークハイブリダイゼーショ
ンは、DIG Easy hyb (ベーリンガー・マンハイム株式会社), DIG Wash and Block
Buffer Set (ベーリンガー・マンハイム株式会社) およびDIG Nucleic acid
Detection Kit (ベーリンガー・マンハイム株式会社) を用い添付の手順書に従
い行った。その結果、3x10⁶個ファージより8種の陽性クローンを得ることが出来た。

各クローンのうち、先に報告されているヒトUCP-2 cDNA (Gimeno, R. E. ら (1998) Diabetes, 47 (4), 685-687) 配列から得られるnon-coding Exonの内部のプライマー (5'-CAAAGCTGCCAGTGGCTATCATGGCCCG-3') を合成し、non-coding Exonを含むものを EMBL3の配列を含むプライマー (5'-GACCGGTCGACCCAGATCTGGGTGACCTG-3') とのPCRで検出し、UCP-2の5'上流域を含むゲノミッククローンを得た。ゲノミッククローンからUCP-2プロモーター領域を含む3.5Kbpの断片を調製し、pCR-blunt1ベクター (インビトロジェン社) に挿入し、形質転換体E. coli TOP10/pCR-UCP2P5' #1-10を作製した。その後、制限酵素地図を作製し塩基配列の決定を行った。決定した塩基配列を図1～図6に示す。図1～図6に示すように塩基番号2271～2326および、塩基番号3416～3505がヒトUCP-2 cDNA (Gimeno, R. E. ら (1998) Diabetes, 47 (4), 685-687) に、完全に一致した。さらにこれら一致した部分の塩基配列末端は、イントロン-エクソンの境界塩基配列の特徴であるシャーンボーンルールと合致したことから、一致した塩基配列間はイントロンであると考えられる。また、第1Exonの上流にはTATA-box配列の存在しないプロモーターの特長であるCpG島と思われる配列 (塩基番号2070～2270付近) を確認した。そして、上述のプロモーター配列中には脂肪細胞関連遺伝子プロモーターのレギュレーター配列であるPPRE (塩基番号284～296) および、3カ所のC/EBP結合部位 (塩基番号1316～1320、1364～1368、1698～1692) を確認した。

20 実施例2 ヒトUCP-2遺伝子のプロモーター活性の検定

クローニングしたゲノムDNA断片がプロモーター活性をもつことを確認するためにルシフェラーゼアッセイ法を行った。ホタルルシフェラーゼをレポーター遺伝子とするプラスミド、pGL3-Basic plasmid (プロメガ株式会社製) をベクターとした。内部標準として、SV40プロモーター支配下にシーパンジールシフェラーゼを発現するpRL-SV40 plasmid (プロメガ株式会社製) を用いた。

ヒトUCP-2遺伝子ゲノムDNAからEcoRI断片 (3.5kb) を単離し、Blunting High Kit (東洋紡社製) を用いて平滑化後、pGL3-Basic plasmid DNAをSmaIで消化したベクターに結合した。以上の手順でpGL3-Basicベクターに図1～図6中の塩基番号1～3505までの塩基が連結されたヒトUCP-2プロモーター/ルシフェラーゼベクター

(pGL-3UCP2)を作製した。作製したヒトUCP-2プロモーター/ルシフェラーゼベクターをUCP-2を恒常的に発現していることをRT-PCRで確認したHepG2細胞へ一過的に導入する事により活性の検定を行った。

5 HepG2細胞を60000細胞/穴の濃度で24穴マルチプレート(ヌンク社製)に播種し、37℃、5%CO₂で一晩培養した。一穴あたり1μgのヒトUCP-2プロモーター/ルシフェラーゼベクターDNAあるいは、pGL3-Basic DNAおよび0.1μgのpRL-SV40 DNAをSuperFect Transfection Reagent (キアゲン株式会社製)を用いて一過性導入を行った。その手順は、添付の手順書に従った。その後、24時間、37℃、5%CO₂で培養し、培養終了後、各ルシフェラーゼ活性をピッカジーンデュアルシーパンジー (ニッポンジーン株式会社製)を用い添付の手順書に従い、検出した。測定データは、pRL-SV40由来のシーパンジールシフェラーゼ活性の値を内部標準として用いて、相対的な活性として測定した。その結果を、図7に示す。ヒトUCP-2プロモーター/ルシフェラーゼベクター由来のルシフェラーゼ活性は、プロモーターを含まないpGL3-Basicに比して非常に強い活性を示した。以上のことから、本発明のヒトUCP-2遺伝子ゲノムDNAは、生体内でのUCP-2遺伝子発現様式を反映したプロモーター活性を有していることがわかった。

実施例3 ヒト分化脂肪細胞様細胞におけるヒトUCP-2遺伝子のプロモーター活性の検定

20 実施例2で得られたヒトUCP-2プロモーター/ルシフェラーゼベクターDNAを用いてヒトMG-63細胞を脂肪細胞様細胞に分化させた細胞でのプロモーター活性を確認した。

25 MG-63細胞を100000細胞/穴の濃度で24穴マルチプレート(ヌンク社製)に播種し、37℃、5%CO₂で一晩培養した。一穴あたり1μgのヒトUCP-2プロモーター/ルシフェラーゼベクターDNAあるいは、pGL3-Basic DNAおよび0.1μgのpRL-SV40 DNAをSuperFect Transfection Reagent (キアゲン株式会社製)を用いて一過性導入を行った。その手順は、添付の手順書に従った。さらに、ウサギ血清(ギブコ社製)を5%含むDulbecco's modified Eagle's MEM(ギブコ社製)に培地交換し、脂肪細胞様細胞への分化を誘導した。その後、24、36、72時間、37℃、5%CO₂で培養し、

培養終了後、各ルシフェラーゼ活性を実施例2に従い、検出した。測定データは、pRL-SV40由来のシーバングールシフェラーゼ活性の値を内部標準として用いて、相対的な活性として測定した。その結果を、図8に示す。ヒトUCP-2プロモーター/ルシフェラーゼベクター由来のルシフェラーゼ活性は、ヒトMG-63細胞を脂肪細胞様細胞に分化させた細胞内でもプロモーターを含まないpGL3-Basicに比して非常に強い活性を示した。以上のことから、本発明のヒトUCP-2遺伝子ゲノムDNAは、ヒト分化脂肪細胞様細胞でも生体内でのUCP-2遺伝子発現様式を反映したプロモーター活性を有していることがわかった。

10 実施例4 ヒト UCP-2 プロモーター欠失体の作製

実施例2において作製したヒト UCP-2 プロモーター/ルシフェラーゼベクターを KpnI および、MluI で消化し Kilo-Sequence 用 Deletion Kit (宝酒造社製) を用いてプロトコールに従い、図9に示す欠失体を作製した。まず、KpnI および、MluI で消化したプラスミドをフェノール処理、エタノール沈殿を行い精製した。その後、ExonucleaseIII を反応させ、1分ごとにサンプリングし反応を停止した。さらに、Mung Bean Nuclease を反応させて、末端の平滑化を行った。これを Klenow fragment で末端修復を行い、DNA ligase で閉環した。さらに、再び、MluI で消化し欠失が起こらなかったプラスミドを開環した。この反応液で E. coli JM 109 competent cell (宝酒造社製) を形質転換した。得られた欠失体クローンのプラスミドを公知の方法で精製し、アガロース電気泳動法を用いて、欠失プラスミドの分子量を確認し、クローンを選択した。これらクローンについては公知の方法で塩基配列を確認した。

このプラスミドを用い、実施例2の方法に準じて、プロモーター活性を測定した(図10)。

25 実施例1に示した PPRE (塩基番号 284~296) を含む塩基配列を欠失させると UCP-2 プロモーター活性が 70%程度上昇した。よって、この配列部位が UCP-2 プロモーターサプレッサー活性を有していると思われる。また、2カ所の C/EBP 結合部位 (塩基番号 1316~1320、1364~1368) を含む塩基配列を欠失させると UCP-2 プロモーター活性が 30%程度低下した。このことにより、2カ所の C/EBP 結合部位

を含む塩基配列が UCP-2 プロモーターエンハンサー活性を有していると考えられる。また、転写開始点より下流に 290 塩基欠失させると UCP-2 プロモーター活性は検出されなかった。これらのことより、本発明のヒト UCP-2 遺伝子ゲノム DNA は、生体内での UCP-2 遺伝子発現制御様式を反映したプロモーター活性を有して

5 いることがわかった。

産業上の利用可能性

本発明のUCP-2プロモーターは、レギュレーター配列を含むので、通常それらを含まないものに比べ、よりヒト生体内に近いUCP-2の発現様式を反映した活性を有

10 する。よって、よりヒト生体内に近い条件でヒトの疾患の治療、薬剤のスクリーニング系の設定などにおいて用いるベクターに組込むプロモーターとして使用できる。

請 求 の 範 囲

1. アンカップリングプロテイン-2 (UCP-2) のレギュレーター配列を含むプロモーター領域を含有するDNA。

5

2. レギュレーター配列が PPRE (Peroxisome Proliferator Response Element) を含有する配列である請求項 1 記載のDNA。

3. レギュレーター配列が C/EBP (CCAAT/Enhancer Binding Protein) 結合配列を含有する配列である請求項 1 記載のDNA。

10

4. プロモーター領域が配列番号：1 の第 1 番目ないし第 2 2 7 0 番目で表される塩基配列またはその一部を含有する塩基配列で表される請求項 1 記載のDNA。

15

5. 請求項 1 記載のDNAを含有する組換えベクター。

6. UCP-2 のレギュレーター配列を含むプロモーター領域の発現制御下に構造遺伝子を有するDNAを含有する請求項 5 記載の組換えベクター。

20

7. 請求項 5 記載の組換えベクターで形質転換された形質転換体。

8. 請求項 7 記載の形質転換体を用いることを特徴とする UCP-2 プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法。

25

9. 請求項 7 記載の形質転換体を用いることを特徴とする熱産生を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法。

10. 請求項 7 記載の形質転換体を用いることを特徴とする抗肥満薬、抗糖尿

病薬、降圧薬、抗高脂血症薬または解熱薬のスクリーニング方法。

1 1. 請求項 7 記載の形質転換体を用いることを特徴とする UCP-2 プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング用キット。

5

1 2. 請求項 8 記載のスクリーニング方法または請求項 1 1 記載のスクリーニング用キットを用いて得られる UCP-2 プロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩。

10 1 3. 請求項 9 記載のスクリーニング方法を用いて得られる熱産生を促進または阻害する化合物またはその塩。

1 4. 請求項 8 記載のスクリーニング方法または請求項 1 1 記載のスクリーニング用キットを用いて得られる UCP-2 プロモーター活性を促進または阻害する化

15 合物またはその塩を含有してなる医薬組成物。

☒ 1

10 20 30 40 50 60
AACGGATCTG CCCGCCTCAG CCTCCCAAAG TGCTGGGATT GCAGGCGTGA GCCACCTCAC

70 80 90 100 110 120
CTGGCTACAA GTTTTCAAAA TACATTTATC TAGTACCCAT ACATTCTCCA GTTTGTCCAC

130 140 150 160 170 180
AGGACATCTT ATGACTTGAG CAAGCTGCTA AAAATCCAAG GGTGCAGCGT TTGTATGTCT

190 200 210 220 230 240
ATAGGATTGC TCAGATCTGC CCCCACCCTG AAAGAATTTA AGAGAATTTT TTGAGGCCAG

250 260 270 280 290 300
GCACAGTGGC TCACACCTGT AATTCCAGTA CTGTGAGAGT CCGAGGTCAG AGGACTGCTT
PPRE

310 320 330 340 350 360
GAGGCCAGGA GTTCAAGAGC AGCCTGGACA ACACAGGGAG ACCTGTCACT ACAAAGAATA

370 380 390 400 410 420
AATAAATTAG CCAGGCTTAG TGGCTCATCC CTGTGGTCCC AGCTACTAGG GAGGCAGAAG

430 440 450 460 470 480
TAGGACTGCT TGTCACAGGA GGTCAAGACT GCAGTGAGCT GAGACCCAGC CACCTGCATT

490 500 510 520 530 540
CCAGCCTGGG CAACAAAAAG AGACCCTGTC TCAAAAAATA AGTTAAATAA ATAAATAATA

550 560 570 580 590 600
AAAATAGTTT AAACCCTAAA CACATCTTCT TTTTCAAAGA GGACTTCTTA AGGACTTCAT

610 620 630 640 650 660
GCTGCGTCCT GTTGATCTCC ACTTCCCTTT TTCAGCGTCC AACTTTTAA CAGTCTCTTT

図 2

670 680 690 700 710 720
TGCCAAGGAT AATAAGTATA TAGTTTCTGG AATCCAGATT CTTCCCTGTT TGGACAGCCA

730 740 750 760 770 780
GGGGGACAAT TTTTGGTCTG CAGGCCTTTG CATCTGTTCT GCTGTTGCTC AGCAATCTCA
GRE

790 800 810 820 830 840
CAGCAAATTT GCCGAGCCTC TCCGGAATGC ACAGCCAGAC AGAGCTCAGC GCAAAAGCTA

850 860 870 880 890 900
GAGAACCTGG CGGAGGGAGA CTCACAGTGC CACAAAAAAA CTTTATCTTT TCTTTTTTTT

910 920 930 940 950 960
TTTCTTTTCT TTCTTTCTCT TTCTTTCTTG TCTTTCTGTC TTTCTCTCT CTCTCTCTGT

970 980 990 1000 1010 1020
CTTTCTTTCC TCTCTTTCTT TCTTTTTTCC TACATGGCAA GATCTCCTCA TGGCAGAAAT

1030 1040 1050 1060 1070 1080
AATCTGCCTT GACTTCTGTT TCCACGCTGC TTCTGCCAGG ACCATGCGCT CGGCGTGTTT
GRE

1090 1100 1110 1120 1130 1140
TTCTTTCCGC TATAATTATC CAGGCCCATC CCAGCTCTGG TCCCCTCAGC TGTTCCCTGG

1150 1160 1170 1180 1190 1200
CAGTCCCTTC TGCTGGTGAA AACACATATG GCGCCGGCCT GACCAGGGTG TAAGTGTGTG

1210 1220 1230 1240 1250 1260
AATATCAGGA AGATGACTGA ACGTCTTTGG GACTCCGTTT CCTCATTGTA AAATGGAGGT

图 3

1270	1280	1290	1300	1310	1320
TAATACCAGC	CTTCTTCTAC	TCCCCAAACG	CACGTGTTTG	TCCCGGCCAG	AGGGCCCAAT
					C/EBP
1330	1340	1350	1360	1370	1380
TGTTGGCTGT	TCACGCATCA	GTTACCCCCA	CAGGACGGGT	CAGCCAATTA	AAGGCGAACC
				C/EBP	
1390	1400	1410	1420	1430	1440
AGGCCCGGTC	CATCTCCTGA	CGCCTTTTCT	CATCCCAGGG	CTGGACAGGC	AGCTGGCCTG
				MyoD	
1450	1460	1470	1480	1490	1500
GGCCCCGGCTC	TGCCTTGTC	CGTGCGGGGG	CCGGCCCGTT	TGCTTGTCTG	TGTGTAGGAG
	GRE				
1510	1520	1530	1540	1550	1560
CGTGAGGTCA	CGCTGGGTGC	TCCCGCCCCG	CCGGGGCCTT	TAGTGTCCCT	GGTCCCTAAA
1570	1580	1590	1600	1610	1620
CGCCAGGCCG	CTCCACCGGG	GGAGAAGGCG	CGAACCCAG	CCGAGCCCAA	CGGCTGTTGT
1630	1640	1650	1660	1670	1680
CGGTTGCCGG	GCCACCTGTT	GCTGCAGTTC	TGATTGGTTC	CTTCCCCGA	CAACGCGGCG
1690	1700	1710	1720	1730	1740
GCTGTAACCA	ATCGACAGCG	AGGCCGGTCG	CGAGGCCCCA	GTCCCGCCCT	GCAGGAGCCA
	C/EBP				
1750	1760	1770	1780	1790	1800
GCCGCGCGCT	CGCTCGCAGG	AGGGTGGGTA	GTTTGCCAG	CGTAGGGGGG	CTGGGCCCCAT
1810	1820	1830	1840	1850	1860
AAAAGAGGAA	GTGCACTTAA	GACACGGCCC	CGCTGGACGC	TTGTTAGAAA	CCGTCCTGGC
1870	1880	1890	1900	1910	1920
TGGGAAGGCA	AGAGGTGTGT	GACTGGACAA	GACTTGTTTC	TGGCGGTCAG	TCTTGCCATC

☒ 4

1930	1940	1950	1960	1970	1980
CTCACAGAGG	TTGGCGGCCC	GAGAGAGTGT	GAGGCAGAGG	CGGGGAGTGG	CAAGGGAGTG
1990	2000	2010	2020	2030	2040
ACCATCTCGG	GGAACGAAGG	AGTAAACGCG	GTGATGGGAC	GCACGGAAAC	GGGAGTGGAG
2050	2060	2070	2080	2090	2100
AAAGTCATGG	AGAGAACCCT	AGGCGGGGCG	GTCCCCGCGG	AAAGGCGGCT	GCTCCAGGGT
2110	2120	2130	2140	2150	2160
CTCCGCACCC	AAGTAGGAGC	TGGCAGGCCC	GGCCCCGCCC	CGCAGGCCCC	ACCCCGGGCC
2170	2180	2190	2200	2210	2220
CCGCCCCCGA	GGCTTAAGCC	GCGCCGCCGC	CTGCGCGGAG	CCCCACTGCG	AAGCCCAGCT
2230	2240	2250	2260	2270	2280
GCGCGCGCCT	TGGGATTGAC	TGTCCACGCT	CGCCCGGCTC	GTCCGACGCG	CCCTCCGCCA
2290	2300	2310	2320	2330	2340
GCCGACAGAC	ACAGCCGCAC	GCACTGCCGT	GTTCTCCCTG	CGGCTCGGTG	AGCCTGGCCC
2350	2360	2370	2380	2390	2400
CAGCCCTGCG	CCCTTTGCGC	CCCCCACGCT	TGTTCTGCGT	GCGCTGCCCC	CTCTTCCATT
2410	2420	2430	2440	2450	2460
TACCTTCTCT	CCCACCCAAG	TTTGTACTCT	TTTCTTTCTC	TCGGTTTTAT	TTTTTGTTTT
2470	2480	2490	2500	2510	2520
TGTTTGTTTG	TTTGAGACAG	GCTTTCGCTC	TGTCTCCAG	GCTGGAGTGC	AGTGGCGCGA
2530	2540	2550	2560	2570	2580
TCTCGGCTCA	CTGCAGCCTC	CACCTCCCAG	GTTCAAGCGA	TCCGCCTGCC	GAGTAGCTGG

☒ 5

2590 2600 2610 2620 2630 2640
GATTACAGGC GCCCGCCACC ACGCCTGGCT AATTTTGTG TTTGTAGAG ATGGGGTTTC

2650 2660 2670 2680 2690 2700
GCCATGTTGG CCAGGCTGGC CTCGAACTGC TCAGCTCAAG CAATCCGCCC GCCTCGGCCT

2710 2720 2730 2740 2750 2760
CACAAAGTCC TAGAATTTTA GGCATGAGCC TCCGGGTCCG GCCTGTGCTA ATCCTTTCTG

2770 2780 2790 2800 2810 2820
TCCTTG GTTC TTTATTTCCC TTCTCTCTTT TTCTTAGTCC CTTTGTCTT TTCCCTCTCC

2830 2840 2850 2860 2870 2880
CGTTCAGTTG GCTGTCGTTT GAGCCTCCAC CTTTTCCTC CCTCCTTCC ACCACGATGC

2890 2900 2910 2920 2930 2940
CGAGCCCTGC CTTGGATGGG GACCATCAGC GATGACCACA ATGACCTCTC CCTTACCAGG

2950 2960 2970 2980 2990 3000
CAGCTCCAGG CAGTGTTCCT GCACCGCCTT TCCCAAGGCT TGGGGGCTTT TTCTAGTGGG

3010 3020 3030 3040 3050 3060
CTTTGAGCTG CTCAATCTGG CCTCTGCAGG GCCGGCTCCC AGCCCTTCCA ACCTCCTCAC

3070 3080 3090 3100 3110 3120
AGCCCGACCT GGGACCTAGC CAATTCCCGG AGAGTCTCTG TCCCATCGTG ACCCCCTCAC

3130 3140 3150 3160 3170 3180
AACTCTCCCA CTCACCAAAG TCTGATGACT GTGCTAGGGG GTGCTTATAT AGAGTACTGA

3190 3200 3210 3220 3230 3240
GTGTTACAAA AGCAGAAGTC TGGATGAGAA CCAATTTGTG ATATTAAGCA GGTGGGGTGG

図 6

3250	3260	3270	3280	3290	3300
GGGTGGGGAG	TGTACCTAGG	TTCATTTTCC	GCCCTGCTTT	TCCCCTTTCC	AGTGTGTGCA
3310	3320	3330	3340	3350	3360
CTTAACCAGT	CCCTGGGCCC	TGTTCCCAT	CCCCCTCCAA	GGCATGGATT	GGGTGGGCTT
3370	3380	3390	3400	3410	3420
GTGTGTCTTG	GGGCAGGTGG	CCCTTTCTAA	ACTCTCTGCC	TTTGCTCACC	CACAGGACAC
3430	3440	3450	3460	3470	3480
ATAGTATGAC	CATTAGGTGT	TTCGTCTCCC	ACCCATTTTC	TATGGAAAAC	CAAGGGGATC
3490	3500	3510	3520	3530	3540
GGGCCATGAT	AGCCACTGGC	AGCTT.....

図 7

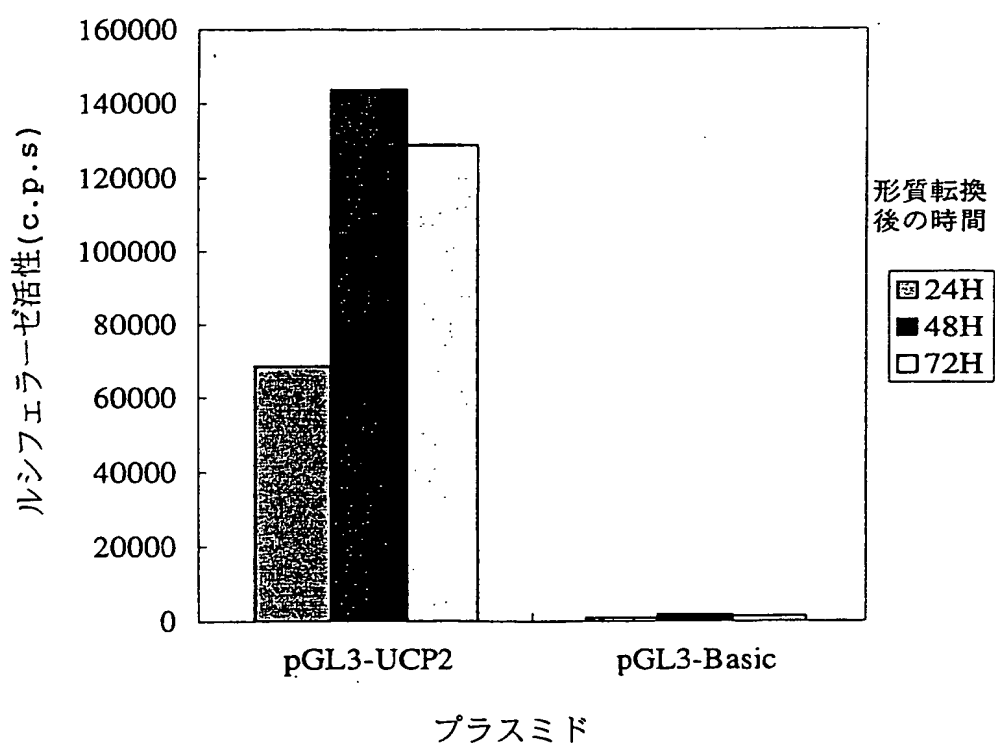


図 8

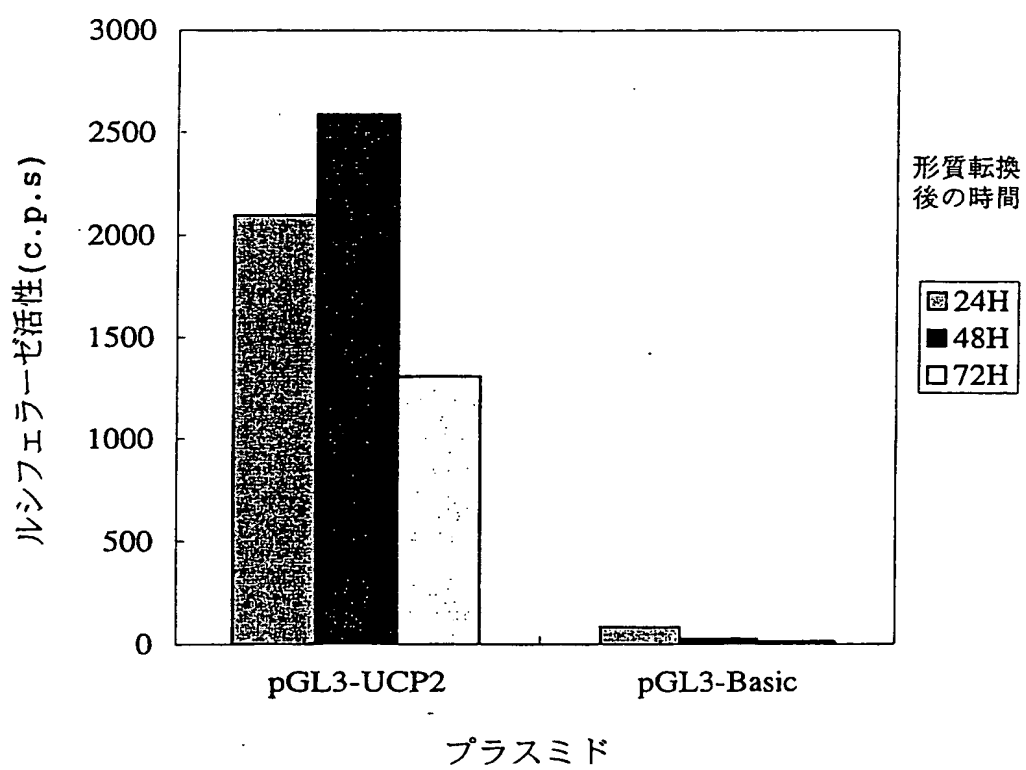


図 9

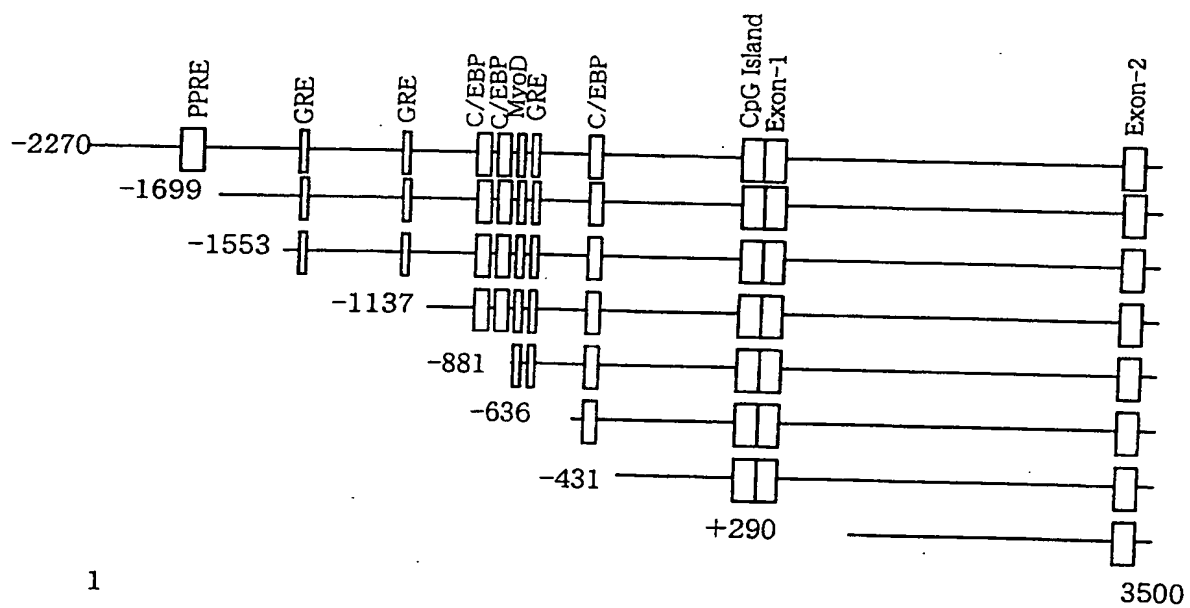
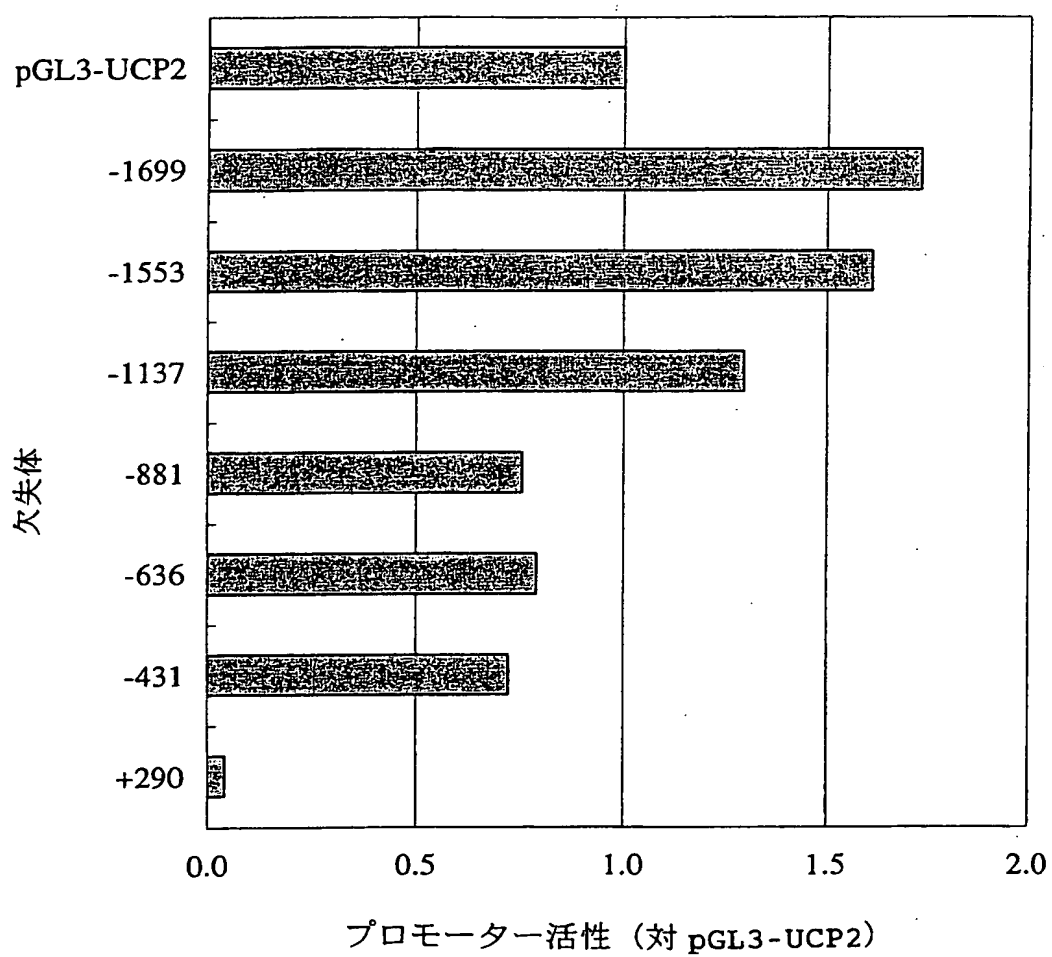


図 10



SEQUENCE LISTING

<110> Takeda Chemical Industries, Ltd.

<120> UCP-2 promoter and use thereof

5 <130> 2583W00P

<150> JP 10-366719

<151> 1998-12-24

<160> 5

<210> 1

10 <211> 3505

<212> DNA

<213> Human

<400> 1

	AACGGATCTG CCCGCCTCAG CCTCCCAAAG TGCTGGGATT GCAGGCGTGA GCCACCTCAC	60
15	CTGGCTACAA GTTTTCAAAA TACATTTATC TAGTACCCAT ACATTCTCCA GTTTGTCCAC	120
	AGGACATCTT ATGACTTGAG CAAGCTGCTA AAAATCCAAG GGTGCAGCGT TTGTATGTCT	180
	ATAGGATTGC TCAGATCTGC CCCCACCCTG AAAGAATTTA AGAGAATTTC TTGAGGCCAG	240
	GCACAGTGGC TCACACCTGT AATTCCAGTA CTGTGAGAGT CCGAGGTCAG AGGACTGCTT	300
	GAGGCCAGGA GTTCAAGAGC AGCCTGGACA ACACAGGGAG ACCTGTCACT ACAAAGAATA	360
20	AATAAATTAG CCAGGCTTAG TGGCTCATCC CTGTGGTCCC AGCTACTAGG GAGGCAGAAG	420
	TAGGACTGCT TGTCCCAGGA GGTCAAGACT GCAGTGAGCT GAGACCCAGC CACCTGCATT	480
	CCAGCCTGGG CAACAAAAAG AGACCCTGTC TCAAAAAATA AGTTAAATAA ATAAATAATA	540
	AAAATAGTTT AAACCCTAAA CACATCTTCT TTTTCAAAGA GGACTTCTTA AGGACTTCAT	600
	GCTGCGTCCT GTTGATCTCC ACTTCCCTTT TTCAGCGTCC ACACTTTTAA CAGTCTCTTT	660
25	TGCCAAGGAT AATAAGTATA TAGTTTCTGG AATCCAGATT CTTCCCTGTT TGGACAGCCA	720
	GGGGGACAAT TTTTGGTCTG CAGGCCTTTG CATCTGTTCT GCTGTTGCTC AGCAATCTCA	780
	CAGCAAATTT GCCGAGCCTC TCCGGAATGC ACAGCCAGAC AGAGCTCAGC GCAAAAGCTA	840
	GAGAACCTGG CGGAGGGAGA CTCACAGTGC CACAAAAAAA CTTTATCTTT TCTTTTTTTT	900
	TTTCTTTTCT TTCTTTCTCT TTCTTTCTTG TCTTTCTGTC TTTCTCTCT CTCTCTCTGT	960

CTTTCTTTCC TCTCTTTCTT TCTTTTTTCC TACATGGCAA GATCTCCTCA TGGCAGAAAT 1020
AATCTGCCTT GACTTCTGTT TCCACGCTGC TTCTGCCAGG ACCATGCGCT CGGCGTGTTC 1080
TTCTTTCCGC TATAATTATC CAGGCCCATC CCAGCTCTGG TCCCCTCAGC TGTTCCTGG 1140
CAGTCCCTTC TGCTGGTGAA AACACATATG GCGCCGGCCT GACCAGGGTG TAAGTGTGTG 1200
5 AATATCAGGA AGATGACTGA ACGTCTTTGG GACTCCGTTT CCTCATTGTA AAATGGAGGT 1260
TAATACCAGC CTTCTTCTAC TCCCCAAACG CACGTGTTTG TCCCGGCCAG AGGGCCCAAT 1320
TGTTGGCTGT TCACGCATCA GTTACCCCCA CAGGACGGGT CAGCCAATTA AAGGCGAACC 1380
AGGCCCGGTC CATCTCCTGA CGCCTTTTCT CATCCCAGGG CTGGACAGGC AGCTGGCCTG 1440
GGCCCGGCTC TGCCTTGTCA CGTGCGGGGG CCGGCCCGTT TGCTTGTCTG TGTGTAGGAG 1500
10 CGTGAGGTCA CGCTGGGTGC TCCCGCCCCG CCGGGGCCTT TAGTGTCCCT GGTCCCTAAA 1560
CGCCAGGCCG CTCCACCGGG GGAGAAGGCG CGAACCCAG CCGAGCCCAA CGGCTGTTGT 1620
CGGTTGCCGG GCCACCTGTT GCTGCAGTTC TGATTGGTTC CTTCCCCGA CAACGCGGCG 1680
GCTGTAACCA ATCGACAGCG AGGCCGGTCG CGAGGCCCCA GTCCCGCCCT GCAGGAGCCA 1740
GCCGCGCGCT CGCTCGCAGG AGGGTGGGTA GTTTGCCAG CGTAGGGGGG CTGGGCCCAT 1800
15 AAAAGAGGAA GTGCACTTAA GACACGGCCC CGCTGGACGC TTGTTAGAAA CCGTCCTGGC 1860
TGGGAAGGCA AGAGGTGTGT GACTGGACAA GACTTGTTTC TGGCGTCTAG TCTTGCCATC 1920
CTCACAGAGG TTGGCGGCCC GAGAGAGTGT GAGGCAGAGG CGGGGAGTGG CAAGGGAGTG 1980
ACCATCTCGG GGAACGAAGG AGTAAACGCG GTGATGGGAC GCACGAAAC GGGAGTGGAG 2040
AAAGTCATGG AGAGAACCCT AGGCGGGGCG GTCCCCGCGG AAAGGCGGCT GCTCCAGGGT 2100
20 CTCCGCACCC AAGTAGGAGC TGGCAGGCCC GGCCCCGCCC CGCAGGCCCC ACCCCGGGCC 2160
CCGCCCCGA GGCTTAAGCC GCGCCGCCGC CTGCGCGGAG CCCCCTGCG AAGCCCAGCT 2220
GCGCGCGCCT TGGGATTGAC TGTCCACGCT CGCCCGGCTC GTCCGACGCG CCCTCCGCCA 2280
GCCGACAGAC ACAGCCGCAC GCACTGCCGT GTTCTCCCTG CGGCTCGGTG AGCCTGGCCC 2340
CAGCCCTGCG CCCTTTGCGC CCCCCACGCT TGTTCTGCGT GCGCTGCCG CTCTCCATT 2400
25 TACCTTCTCT CCCACCAAG TTTGTACTCT TTTCTTTCTC TCGGTTTTAT TTTTGTGTTT 2460
TGTTTGTGTTG TTTGAGACAG GCTTTGCTC TGTCTCCAG GCTGGAGTGC AGTGGCGCGA 2520
TCTCGGCTCA CTGCAGCTC CACCTCCAG GTTCAAGCGA TCCGCTGCC GAGTAGCTGG 2580
GATTACAGGC GCCC GCCACC ACGCCTGGCT AATTTTTGTG TTTGTAGAG ATGGGGTTTC 2640
GCCATGTTGG CCAGGCTGGC CTCGAACTGC TCAGCTCAAG CAATCCGCC GCCTCGGCCT 2700

CACAAAGTCC TAGAATTTTA GGCATGAGCC TCCGGGTCCG GCCTGTGCTA ATCCTTTCTG 2760
TCCTTGGTTC TTTATTTCCC TTCTCTCTTT TTCTTAGTCC CTTTGTCTTCT TTCCCTCTCC 2820
CGTTCAGTTG GCTGTCGTTT GAGCCTCCAC CTTTTCACCTC CCTCCTTTCC ACCACGATGC 2880
CGAGCCCTGC CTTGGATGGG GACCATCAGC GATGACCACA ATGACCTCTC CCTTACCAGG 2920
5 CAGCTCCAGG CAGTGTTCTT GCACCGCCTT TCCCAAGGCT TGGGGGCTTT TTCTAGTGGG 3000
CTTTGAGCTG CTCAATCTGG CCTCTGCAGG GCCGGGCTCCC AGCCCTTCCA ACCTCCTCAC 3060
AGCCCGACCT GGGACCTAGC CAATTCCCGG AGAGTCTCTG TCCCATCGTG ACCCCCTCAC 3120
AACTCTCCCA CTCACCAAAG TCTGATGACT GTGCTAGGGG GTGCTTATAT AGAGTACTGA 3180
GTGTTACAAA AGCAGAAGTC TGGATGAGAA CCAATTTGTG ATATTAAGCA GGTGGGGTGG 3240
10 GGGTGGGGAG TGTACCTAGG TTCATTTTCC GCCCTGCTTT TCCCCTTTCC AGTGTGTGCA 3300
CTTAACCAGT CCCTGGGCCC TGTTCCCAT CCCCCTCAA GGCATGGATT GGGTGGGCTT 3360
GTGTGTCTTG GGGCAGGTGG CCCTTTCTAA ACTCTCTGCC TTTGCTCACC CACAGGACAC 3420
ATAGTATGAC CATTAGGTGT TTCGTCTCCC ACCCATTTTC TATGGAAAAC CAAGGGGATC 3480
GGGCCATGAT AGCCACTGGC AGCTT 3505

15 <210> 2
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>

20 <223> Primer
<400> 2
ATGGTTGGGT TCAAGGCCAC AGATGTGCCC 30

<210> 3
<211> 30
25 <212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Primer
<400> 3

ATACAGGCCG ATGCGGACAG AGGCAAAGCT

30

<210> 4

<211> 28

<212> DNA

5 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> Primer

<400> 4

CAAAGCTGCC AGTGGCTATC ATGGCCCG

28

10 <210> 5

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

15 <223> Primer

<400> 5

GACCGGTCGA CCCAGATCTG GGTCGACCTG

30